

# Predanalitičke i analitičke greške u mikrobiološkoj dijagnostici

---

**Bartulica, Elena**

**Undergraduate thesis / Završni rad**

**2015**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Split / Sveučilište u Splitu**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:176:074012>

*Rights / Prava:* [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2025-02-17**

*Repository / Repozitorij:*



Sveučilišni odjel zdravstvenih studija  
SVEUČILIŠTE U SPLITU

[Repository of the University Department for Health Studies, University of Split](#)



UNIVERSITY OF SPLIT



DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

SVEUČILIŠTE U SPLITU

Podružnica

SVEUČILIŠNI ODJEL ZDRAVSTVENIH STUDIJA

PREDDIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ

MEDICINSKO LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA

**Elena Bartulica**

**PREDANALITIČKE I ANALITIČKE GREŠKE U  
MIKROBIOLOŠKOJ DIJAGNOSTICI**

**Završni rad**

Split, 2015.

SVEUČILIŠTE U SPLITU

Podružnica

SVEUČILIŠNI ODJEL ZDRAVSTVENIH STUDIJA

PREDDIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ

MEDICINSKO LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA

**Elena Bartulica**

**PREDANALITIČKE I ANALITIČKE GREŠKE U  
MIKROBIOLOŠKOJ DIJAGNOSTICI**  
*PREANALYTICAL AND ANALYTICAL ERRORS IN  
MICROBIOLOGICAL DIAGNOSTICS*

***Završni rad / Bachelor thesis***

Mentor:

**mag. med. lab. dijagn. Mirela Ančić**

Split, 2015.

# SADRŽAJ

|   |    |
|---|----|
| <b>1. UVOD</b> .....  | 1  |
| 1.1. Laboratorijska dijagnostika.....                                       | 1  |
| 1.2. Utjecaj različitih čimbenika na rezultat laboratorijske pretrage ..... | 1  |
| 1.3. Predanalitički čimbenici .....   | 3  |
| 1.4. Analitički čimbenici.....  | 4  |
| 1.5. Mikrobiološka laboratorijska dijagnostika .....                        | 5  |
| <b>2. CILJ RADA</b> .....   | 7  |
| <b>3. IZVORI PODATAKA I METODE</b> .....                                    | 8  |
| 3.1. Načela dobre laboratorijske prakse.....                                | 8  |
| 3.1.1. Pranje ruku .....  | 8  |
| 3.1.2. Postupak dekontaminacije u slučaju prolijevanja uzorka .....         | 9  |
| 3.1.3. Sadržaj uputnice .....   | 10 |
| 3.2. Uzorci za mikrobiološke pretrage.....                                  | 11 |
| 3.2.1. Hemokultura i likvor .....   | 12 |
| 3.2.2. Koža, meka tkiva i punktati.....                                     | 15 |
| 3.2.3. Respiratorni uzorci .....  | 17 |
| 3.2.4. Probavni uzorci, mikološki i parazitološki uzorci.....               | 19 |
| 3.2.5. Urogenitalni uzorci.....   | 22 |
| 3.2.6. Serološke pretrage .....   | 27 |
| 3.2.7. Uzorci za molekularnu dijagnostiku .....                             | 28 |
| 3.2.8. Kriteriji za odbacivanje uzorka .....                                | 28 |
| 3.3. Dijagnostičke metode u mikrobiologiji .....                            | 29 |
| 3.3.1. Obrada uzoraka bakterijskih infekcija.....                           | 31 |
| 3.3.2. Obrada uzoraka virusnih infekcija .....                              | 36 |
| 3.3.3. Obrada uzoraka gljivičnih infekcija .....                            | 37 |

|                            |           |
|----------------------------|-----------|
| <b>4. RASPRAVA .....</b>   | <b>39</b> |
| <b>5. ZAKLJUČAK .....</b>  | <b>42</b> |
| <b>6. LITERATURA .....</b> | <b>43</b> |
| <b>7. SAŽETAK .....</b>    | <b>45</b> |
| <b>8. SUMMARY .....</b>    | <b>47</b> |
| <b>9. ŽIVOTOPIS .....</b>  | <b>49</b> |

# 1. UVOD

## 1.1. Laboratorijska dijagnostika

Laboratorijska dijagnostika je medicinska disciplina usmjerena k stjecanju, istraživanju i primjeni znanja. Brojnim tehnikama i metodama analizira sastav tjelesnih tekućina, stanica i tkiva, a rezultati analiza su laboratorijski nalazi na korist pacijentima i liječnicima. Laboratorijska dijagnostika smatra se mladom djelatnošću, ali samo ako se podrazumijeva njezin napredak u posljednjih 80-ak godina. To je multidisciplinarna znanost koja obuhvaća: mikrobiologiju, parazitologiju, virologiju, hematologiju i koagulaciju, transfuziju i imunohematologiju, histopatologiju, kliničku biokemiju, citologiju, imunologiju i molekularnu dijagnostiku.<sup>(1)</sup>

Pravodobna i točna dijagnoza bolesti osnova je uspješnog liječenja bolesnika. Iscrpna anamneza i fizikalni pregled ključni su u postavljanju orijentacijske ili privremene dijagnoze prema kojoj se traže laboratorijska ispitivanja bolesnika. Laboratorijska ispitivanja koja pridonose, potvrđuju, modificiraju ili odbacuju privremenu dijagnozu, ili, što je znatno češće, na osnovi njih traže se dodatna ispitivanja nazivaju se laboratorijskom dijagnostikom. Važnost laboratorijske dijagnostike je u postavljanju dijagnoze, procijeni bolesnikova stanja i djelovanju lijeka i liječenja.

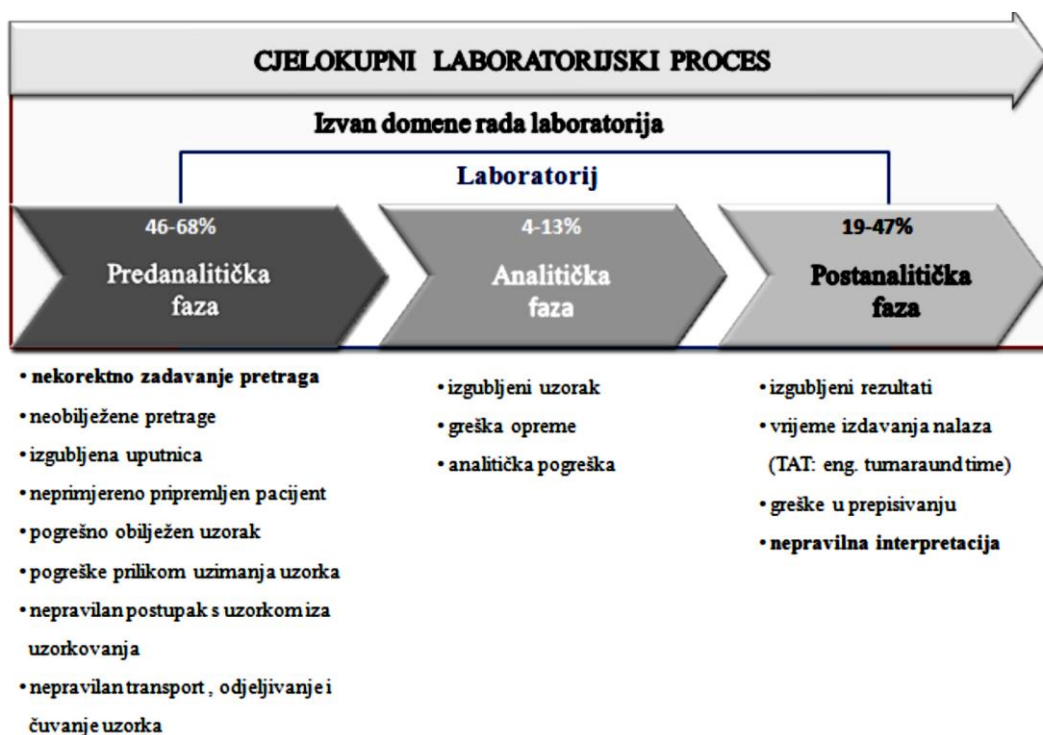
Da bi laboratorijska dijagnostika mogla ispuniti očekivanja potrebno je:

- pravilno uzeti uzorak za laboratorijsko ispitivanje
- postaviti precizan zahtjev za pretragom
- dobro izvesti testove i interpretirati rezultate
- točnost, dobra identifikacija i potpunost cjelokupne dokumentacije.<sup>(2)</sup>

## 1.2. Utjecaj različitih čimbenika na rezultat laboratorijske pretrage

Na rezultate laboratorijske pretrage mogu utjecati brojni čimbenici koji nisu vezani za bolest, a mogu biti predanalitički, analitički i poslijeanalitički. Najčešći izvor pogrešaka u laboratorijskoj dijagnostici se događi u predanalitičkoj fazi. Samo analitička faza se u potpunosti odvija u laboratoriju. Svaki korak u svim fazama je potencijalni izvor pogreške. Prema literaturnim podacima udio pogrešaka je najmanji u analitičkoj fazi rada (4-13%) dok je značajno veći u pred- i post- analitičkoj fazi (50-

70%). Po vremenu trajanja, najduži, a time i najkritičniji dio laboratorijskog procesa je predanalitički dio. Iako se u tom dijelu laboratorijskog procesa javlja od 46 do 68% svih laboratorijskih grešaka, laboratorijskom pogreškom smatra se svaka nesukladnost u bilo kojem dijelu laboratorijskog ciklusa, od zahtjeva za izradom pretraga do tumačenja i primjene nalaza. Najčešće posljedice uz kasnu detekciju postojanja pogreške koja se obično primjećuje tek u laboratoriju, jesu i potreba za ponovljenim uzorkovanjem, produženo vrijeme izrade i izvještavanja, te dodatni napori svih djelatnika uključenih u postupak uzimanja uzorka. Izvananalitička faza nadilazi područje rada stručnog laboratorijskog osoblja i uključuje cjelokupno medicinsko osoblje. Pretpostavlja se da 0,1-9,3% svih izdanih nalaza je pogrešno. S obzirom da se 70-80% medicinskih odluka temelji na rezultatima laboratorijskih nalaza, izuzetno je važno da laboratorijski nalaz bude točan i ispravno interpretiran. Preduvjet za dobru i valjanu interpretaciju nalaza je znati gdje možemo pogriješiti.<sup>(3,4)</sup>



Slika 1. Raspodjela pogrešaka u ukupnom procesu laboratorijskog rada s primjerima pogrešaka u svakoj fazi rada<sup>(3)</sup>

### 1.3. Predanalitički čimbenici

Predanalitičke pogreške uključuju pogreške u predanalitičkoj fazi laboratorijskog procesa. Ove pogreške mogu imati za posljedicu:

- a) grubu pogrešku zamjene uzorka (nepravilno obilježen uzorak, zamjena uzorka)
- b) prisutnost interferencija (nepravilno uzorkovanje, nepravilna priprema bolesnika, nepravilan transport, odjeljivanje, čuvanje uzorka)
- c) neučinjene sve potrebne pretrage (gubitak uputnice, nepravilno označene pretrage ili nekorektno zadavanje pretraga).

Sve ove posljedice ukoliko se prepoznaju odgađaju izdavanje rezultata laboratorijskih pretraga, a time i medicinske odluke (dijagnoza, liječenje). Ukoliko se ne prepoznaju, dovode do izdavanja netočnih rezultata, a što u konačnici rezultira pogrešnom medicinskom odlukom s više ili manje lošim ishodom (pogrešna dijagnoza ili nepotrebni dodatni dijagnostički i/ili terapijski postupci).<sup>(3)</sup>

Prema svojoj naravi predanalitički čimbenici mogu biti biološki (fiziološki) i metodološki (postupak uzimanja krvi i drugih bioloških uzoraka, transport uzoraka u laboratorij, pohrana uzoraka, analitička metoda, kontrola kvalitete rada, način izdavanja nalaza). Važno je istaknuti da je promjenjivost rezultata laboratorijskih pretraga uzrokovana biološkim čimbenicima uglavnom veća od promjenjivosti koju uzrokuju analitički čimbenici. Biološki čimbenici mogu biti kratkotrajni i dugotrajni (tablica 1.). Dugotrajne čimbenike, na koje se ne može utjecati, važno je prepoznati i uzeti u obzir pri procjeni rezultata pretraga. Kratkotrajne biološke i metodološke čimbenike moguće je znatno smanjiti, odnosno ukloniti, standardizacijom predanalitičkih postupaka pri pripremi bolesnika, prije uzimanja uzorka, pri postupku uzimanja uzorka i pri postupku s uzorkom prije obrade.<sup>(5)</sup>

Predanalitički dio laboratorijskog procesa uglavnom se odvija izvan direktnog nadzora laboratorija, a obuhvaća identifikaciju i pripremu bolesnika, prikupljanje uzoraka, rukovanje uzorcima, njihovu dostavu u laboratorij. Dio predanalitičkog procesa unutar laboratorija odnosi se na prihvaćanje uzoraka, pripremu za analitički dio i njihovu raspodjelu po radnim mjestima. Stoga laboratorij treba u svojim postupcima



dobre prakse jasno odrediti i provoditi postupke identifikacije nesukladnih uzoraka i načine uklanjanja njihova utjecaja na konačne rezultate.<sup>(4)</sup>

**Tablica 1. Predanalitički čimbenici<sup>(5)</sup>**

| <b>Dugotrajni biološki čimbenici</b>                 |   |
|--|---|
| Genski   | spol, rasa, nasljedne pogreške, sklonost prema bolestima  |
| Dob  | novorođenčad, djeca do puberteta, odrasle osobe, starije osobe, reproduksijski ciklus   |
| Ekološki   | način prehrane, opći uvjeti života, fizikalni, kemijski i biološki učinci okoliša   |
| Cikličke promjene                                    | menstrualni ciklus, godišnje doba   |
| Tjelesni ustroj                                      |   |
| Navike   | pušenje, alkoholizam i druga sredstva ovisnosti   |
| <b>Kratkotrajni biološki i metodološki čimbenici</b> |   |
| Biološki   | metabolički (gladovanje, stres, tjelesni napor, lokalne metaboličke promjene), hemodinamički (položaj tijela), dnevni ritam, indukcija jetrenih enzima, stanično oštećenje                                |
| Metodološki  | uzimanje krvi (vrsta uzorka, postupak uzimanja, pribor, antikoagulans), postupak s krvi prije obrade (dostava do laboratorija, temperatura, odvajanje seruma/plazme od stanica, centrifugiranje, pohrana) |

#### **1.4. Analitički čimbenici**

Dugo vremena vladalo je mišljenje da je najkritičniji dio laboratorijske dijagnostike analitički dio posla. Međutim modernizacijom tehnologije, automatizacijom analitičkog dijela, informatizacijom, a nadalje unapređivanjem kvalitete reagensa, kontrolnih materijala, i svakako provođenjem kontrole kvalitete rada, bilo unutarnjim ili vanjskim sustavom kontrole, učestalost pogrešaka u tom dijelu laboratorijskog procesa iznosi manje od 13%.<sup>(4)</sup>

Općenito se u laboratoriju primjenjuju kvalitativne i kvantitativne metode (određivanje količine ili koncentracije analita). Pouzdanom analitičkom metodom mora se dobiti rezultat koji zadovoljava kriterije pouzdanosti tj. mora biti točan i jednak ako se analiza ponavlja (precizan). Točnost je izraz slaganja između niza mjerenja izvedenih iz istog uzorka, a preciznost izraz slaganja između izmjerene i prave vrijednosti uzorka. Takvom se metodom mogu mjeriti male koncentracije traženog analita (analitička osjetljivost), a metoda ne podliježe interferencijama s drugim supstancama (analitička specifičnost). Metoda bi, dodatno, trebala imati prihvatljivu cijenu te biti jednostavna i brza za izvođenje, kako bi se pravodobno dobio konačan rezultat.

Različite tvari koje nisu identične s parametrima koji se određuju mogu ometati analitički postupak. Analitički, u postupku mjerenja, mogu smetati lijekovi, nadomjesna terapija plazmom, antikoagulansi, te parametri kao što su hemoglobin, bilirubin, monoklonski imunoglobulini, lipidi, methemalbumin. Pogreške koje se mogu dogoditi u radu laboratorija (grube, sustavne i slučajne) svode se na minimum savjesnim pridržavanjem jasnih, usklađenih postupaka na svakom stupnju procesa rada u laboratoriju, a otkrivaju se postupkom kontrole kvalitete rada.<sup>(6)</sup>

## **1.5. Mikrobiološka laboratorijska dijagnostika**

Mikrobiologija je medicinska struka koja je nastala iz potrebe da se postavi egzaktna dijagnoza uzročnika bolesti tj. da se nesigurna klinička impresija potvrdi egzaktnim podacima. To je interdisciplinarna dijagnostička struka kojoj je svrha postavljanje etiološke dijagnoze infekcija i praćenje antimikrobnog liječenja.<sup>(7)</sup>

Laboratorijska dijagnostika infektivnih bolesti započinje analizom podataka o početku i tijeku bolesti, otkrivanjem kliničkih simptoma i znakova bolesti te isključivanjem ostalih mogućih, nezaraznih, uzročnika bolesti. Mikrobiološka laboratorijska dijagnostika ovisi o nekoliko čimbenika; poznavanje patogeneze infekcije; patogeneza infekcije određenog mikroorganizma određuje vrstu uzorka od bolesnika, tehniku i vrijeme uzimanja uzorka tijekom trajanja infekcije. Osobito je važno u uzorku očuvati što veći broj prisutnih infektivnih čestica, a to znači da treba poznavati načela i pojedinosti uzimanja i slanja uzorka u mikrobiološki laboratorij.<sup>(8)</sup>

Uloga kliničkog mikrobiološkog laboratorija:

- obrada različitih kliničkih uzoraka dostavljenih u laboratorij
- izolacija patogenih mikroorganizama iz kliničkih uzoraka
- identifikacija (specifikacija) patogena (do razine vrste)
- određivanje antimikrobne osjetljivosti/ rezistencije izoliranog mikroorganizma.

Metode mikrobiološke dijagnostike:

- izravno dokazivanje uzročnika ili njegovih antigena
  - mikroskopske metode
  - kultivacija
- neizravno dokazivanje uzročnika-serološke metode
  - specifični imuni odgovor bolesnika na antigene uzročnika
- molekularne metode.<sup>(7)</sup>

## **2. CILJ RADA**

Cilj ovog rada je ukazati na najčešće potencijalne pogreške u predanalitičkoj i analitičkoj fazi rada u mikrobiološkom laboratoriju u svrhu njihovog izbjegavanja. Općenito predanalitička faza uključuje pripremu bolesnika za uzimanje odgovarajućeg uzorka za traženu pretragu, odgovarajući način sakupljanja uzorka, transport uzorka do laboratorija ili njegovu pohranu, odgovarajuću pripremu uzorka prije analitičkog postupka te poznavanje i uzimanje u obzir utjecaja bioloških nepromjenjivih čimbenika. Analitika obuhvaća dio od obrade uzorka pa do dobivanja rezultata.

Svaki laboratorij ima svoja pravila kojih se mora pridržavati ovisno o uzorcima koje obrađuje. Kako kvaliteta laboratorijskih rezultata izravno ovisi o kvaliteti kliničkog uzorka i dobivenim informacijama, tako i uspjeh laboratorijske dijagnostike ovisi o kvaliteti uzorka- vrsti, vremenu i načinu uzimanja jer ne postoji postupak kojim bi se mogli dokazati svi mogući patogeni mikroorganizmi, a da ih se pri tome razlikuje od apatogenih. Kvaliteta i pouzdanost mikrobioloških nalaza također uvelike ovisi o pravilnom prikupljanju uzoraka od pacijenta, te o pravilnom i brzom transportu materijala u laboratorij.

## **3. IZVORI PODATAKA I METODE**

### **3.1. Načela dobre laboratorijske prakse**

U standardne mjere zaštite djelatnika u laboratoriju ubrajamo: pribor za osobnu zaštitu, tehnička sredstva za zaštitu i zaštitne postupke.

Pribor za osobnu zaštitu:

- rukavice
- naočale
- maske
- pregače, ogrtači
- kaljače, čizme, navlake za obuću.

Tehnička sredstva za zaštitu:

- čvrsti nepropusni spremnik za otpad
- igle sa zaštitnim mehanizmom.

Zaštitni postupci:

- pranje ruku
- ispravno odlaganje upotrijebljenih igala i oštih predmeta
- ispravno postupanje sa zagađenim predmetima i inficiranim bolesnicima.<sup>(1)</sup>

Ostala načela: skupljena kosa, bez jela i pića, pušenja, šminkanja.

Sigurnosni kabineti: štite od aerosola, para koje su otrovne pri radu s opasnim mikrobakterijama. Razlikuju se kemijski kabineti (hud koji usisa i izbaci otrovne plinove) i biološki (s vremenom pročisti cijeli zrak u prostoriji, reciklira ga).

#### **3.1.1. Pranje ruku**

Higijena ruku je najjednostavniji i najvažniji način sprječavanja i kontrole infekcija koje se prenose nečistim rukama. Postupcima higijene ruku uklanjamo mikroorganizme koji su potencijalni uzročnici bolničkih infekcija. Higijena ruku provodi se:

- pranjem sapunom i tekućom vodom
- higijenskim utrljavanjem alkoholnog pripravka.

Ukoliko su ruke vidljivo onečišćene obvezno je provesti higijensko pranje ruku sapunom i tekućom vodom. Ukoliko ste bili u kontaktu s bolesnikom kod kojeg je izolirana bakterija *Clostridium difficile* obvezno je provesti postupak pranja ruku sapunom i tekućom vodom. Postupak higijene ruku higijenskim utrljavanjem alkoholnog pripravka provodi se pripravcima koji sadrže jedan ili više dezinficijensa na bazi etilnog alkohola ili izopropanola. Higijensko utrljavanje isto kao i pranje ruku standardna je mjera higijene ruku. Prije higijenskog utrljavanja ruke nije potrebno prati.<sup>(9)</sup>

Postupak pranja ruku sapunom i tekućom vodom (slika 2.):

1. s ruku odstraniti nakit, ručni sat
2. ruke namočiti pod tekućom toplom vodom
3. laktom ili podlakticom dozirati 3-5 ml sredstva za pranje ruku u skupljene ruke
4. trljati da se stvori pjena po cijeloj površini ruku kroz najmanje 1 minutu te slijediti pokrete opisane na posteru
5. dlan o dlan
6. desni dlan preko lijeve nadlanice i obrnuto
7. dlan o dlan s isprepletenim prstima
8. gornji dio prstiju o suprotni dlan
9. kružno trljanje desnog i lijevog palca
10. kružno trljanje vrhova prstiju desne ruke o dlan lijeve ruke i obrnuto
11. ruke temeljito isprati pod tekućom vodom kroz 10-15 sekundi
12. ruke posušiti jednokratnim nerecikliranim papirnatim ručnikom laganim pritiskom i upotrijebljenim ručnikom zatvoriti slavinu.<sup>(2)</sup>

### **3.1.2. Postupak dekontaminacije u slučaju prolijevanja uzorka**

- navući jednokratne rukavice
- pokupiti sadržaj staničevinom
- odbaciti sve u infektivni otpad

- površinu prekriti staničevinom natopljenom u otopini dezinficijensa i ostaviti da djeluje 5 minuta
- staničevinu odbaciti u infektivni otpad
- ponoviti pranje i dezinfekciju površine otopinom dezinficijensa.<sup>(2)</sup>

## Higijensko pranje ruku



Trajanje postupka: 40 - 60 sekundi



Slika 2. Postupak pranja ruku

Izvor: <http://atma.hr/wp-content/uploads/2012/09/files.jpg>

### 3.1.3. Sadržaj uputnice

Svaki uzorak mora pratiti pravilno ispunjena uputnica jer su zamjene uzoraka najčešći uzroci grešaka.<sup>(2)</sup> Važno je pravilno, čitko i u potpunosti ispuniti popratnu uputnicu jer ona često predstavlja jedinu komunikaciju između mikrobiologa i liječnika

koji šalje određeni uzorak na mikrobiološku pretragu. Na mikrobiološkoj uputnici nalaze se sljedeći podaci:

- podaci o ustanovi i njejoj organizacijskoj jedinici, ambulanti ili liječniku koji šalje bolesnika ili uzorak u laboratorij
- podaci za identifikaciju bolesnika (ime, prezime, spol, datum rođenja, adresa, matični broj, zanimanje)
- pretrage koje se traže
- datum
- ime, prezime i potpis liječnika koji je napisao uputnicu
- radna (uputna) dijagnoza
- vrsta i vrijeme uzimanja biološkog materijala
- podaci o antimikrobnom liječenju
- jedinstveni laboratorijski broj koji prati tijekom laboratorijskog procesa (uputnica, uzorak, radna lista, nalaz)
- za hitne pretrage na uputnici je jasno naznačen zahtjev hitnosti.<sup>(9)</sup>

### **3.2. Uzorci za mikrobiološke pretrage**

Klinički uzorci su uzorci uzeti od bolesnika radi postavljanja etiološke dijagnoze i/ili praćenja progresije infekcije. Bitno je da se prije početka primjene antibiotske terapije uzorak dobro odabere, pravilno uzme, brzo transportira do mikrobiološkog laboratorija jer se radi o živim organizmima. Odgovarajući uzorak je:

- uzet s odgovarajućeg mjesta- mjesto aktivne replikacije mikroorganizma
- uzet u odgovarajućoj količini
- kvalitetan (npr. iskašljaj, a ne slina; ili gnoj, a ne bris gnoja).

Vrste kliničkih uzoraka:

- krv, likvor, tkivo- obrada na bakterije, viruse, gljive i parazite
- urin, sputum, feces- obrada na bakterije, viruse i parazite
- bris ždrijela- obrada na bakterije i viruse
- gnoj (rane, apscesa)- obrada na bakterije



- uzorci primarno sterilnih tjelesnih tekućina- likvor, krv za hemokulture, tekućine i svi punktati uzimaju se prema svim pravilima asepsa.

Uzorak, da bi bio valjan, mora predstavljati sam infektivni proces, pri uzorkovanju se treba koristiti odgovarajući pribor i ako bolesnik sam uzima uzorak, treba mu dati precizne upute o pripremi za uzimanje uzorka, načinu uzimanja i transportu uzorka.<sup>(7)</sup> Svi ovi koraci su bitni jer su dio predanalitičke faze obrade uzorka, tako da bilo kakvo odstupanje od provođenja uputa dovodi do značajnih predanalitičkih grešaka.

**Tablica 2. Čuvanje uzoraka od uzimanja do obrade<sup>(7)</sup>**

| Uzorak   | Temperatura       | Obrada             |
|--|-------------------|--------------------|
| Likvor, bioptički uzorci, uzorci za izolaciju anaeroba                                     | Sobna (~ 20°C)    | Odmah!<br>~ ½ sata |
| Hemokulture  | Sobna (~ 20°C)    | ~ 24 sata          |
| Urin, primarno nesterilni uzorci za izolaciju aerobnih i fakultativno anaerobnih bakterija | Hladnjak (4°C)    | ~ 24 sata          |
| Serum za serološke pretrage  | Hladnjak (4°C)    | ~ 24 sata          |
|  | Zamrzivač (-20°C) | >24 sata           |

### 3.2.1. Hemokultura i likvor

#### Krv za hemokulturu

Hemokultura predstavlja važnu dijagnostičku pretragu za dokaz bakterijemije tj. prisutnosti živih bakterija koje su prodrle u krv bolesnika.<sup>(10)</sup> Radi se kod sumnje na sepsu ili kod nejasnog febrilnog stanja. Hemokultura je neponovljivi i prioritetni uzorak.

Postupak pri uzimanju krvi:

- pripremiti sav potreban pribor
- oprati ruke i navući čiste latex rukavice

- dezinficirati mjesto venepunkcije alkoholnim dezinficijensom (ne palpirati kožu nad venom nakon izvršene dezinfekcije)
- dezinficira se površina kože promjera oko 5 cm kružnim pokretima od središta prema periferiji. Postupak treba ponoviti u razmaku od 1 minute. Nakon toga pričekati 1 minutu da se mjesto punkcije posuši i tek tada punktirati, uvijek, ako je to moguće, iz periferne vene
- alkoholnim dezinficijensom dezinficirati i gumeni čep bočice za hemokulturu. Ostaviti 1 minutu prije punkcije da alkohol ishlapi. Provjeriti ispravnost bočice; ukoliko se primijeti bilo kakvo zamućenje ili oštećenje bočice – nemojte je upotrijebiti – odbacite je kao neispravnu. Novom, neupotrijebljenom iglom inokulirati krv u bočicu
- nakon inokulacije, uzorak krvi izmiješati s bujonom ljuljajući lagano bočicu nekoliko puta.

1 uzorak (set) za hemokulturu za odrasle bolesnike čine aerobna bočica (zeleni čep) i anaerobna bočica (narančasti čep). Djeci se krv za hemokulturu uzima samo u pedijatrijsku bočicu (žuti čep). Preporuča se uzeti 3 seta hemokultura u 1 danu, u razmaku od pola sata iz različite ruke. Optimalan omjer krvi i tekuće podloge je 1:10 do 1:20. preporučeni volumen krv je za odrasle 8-10 ml po bočici, za djecu 4 ml, a za novorođenčad 2 ml. Krv bi trebalo uzeti prije uvođenja antimikrobne terapije. Ne smije se uzimati veću količinu krvi od preporučene zbog mogućeg lažnog pozitiviteta bočice. Na inokulirane bočice napisati ime i prezime bolesnika, naziv odjela-klinike, vrijeme vađenja hemokulture i datum. Ne pisati preko bar koda i lota na bočici. Uz inokulirane bočice u mikrobiološki laboratorij poslati i uputnicu koja mora sadržavati čitko ispisane potrebne podatke. Pohrana neinokuliranih bočica je na sobnoj temperaturi, a nakon uzorkovanja potrebno ih je u što kraćem roku dostaviti u laboratorij ili unutar 2 sata na sobnoj temperaturi, a za duže pohraniti u termostat. Uzorke je potrebno obraditi unutar 24 sata. Iz pozitivnih hemokultura se zatim odmah radi identifikacija mikroorganizma i direktni antibiogram. Nalaz negativne hemokulture je sterilan ako nakon 7 dana inkubacije u automatiziranom sustavu nije došlo do porasta mikroorganizama.



Slika 3. Bočice za hemokulturu<sup>(11)</sup>



Slika 4. *BacT/ALERT* 3D automatizirani sustav za hemokulture<sup>(11)</sup>

**Najčešće greške:** nije se pričekalo da alkohol ishlapi, prilikom dezinfekcije gumenog čepa bočice ili prilikom dezinfekcije mjesta venepunkcije; palpirala se vena nakon dezinfekcije, a prije venepunkcije.

### **Likvor**

Cerebrospinalni likvor se uzima pri sumnji na meningitis. Likvor se može uzeti u sterilnu posudicu ili u sterilnu epruvetu s čepom i navojem. Lumbalna punkcija se izvodi prema pravilima aseptičnog uzimanja uzoraka (pažljiva dezinfekcija mjesta punkcije). U mikrobiološki laboratorij treba poslati uzorak likvora uzet lumbalnom punkcijom nakon uzimanja likvora za ostale laboratorijske pretrage (zbog izbjegavanja

moguće kontaminacije). To je također neponovljivi uzorak, pa uz njega treba biti pravilno popunjena uputnica. Likvor se prilikom punkcije nakapa na krute podloge te u epruvetu s tekućom podlogom. Preporučena količina uzorka je minimalno 1 ml za izolaciju bakterija, a 2 ml za izolaciju kvasaca i mikobakterija. Na inokulirane epruvete s podlogama (posudicu) napisati ime i prezime bolesnika te odjel/kliniku. Likvor se odmah odnosi u mikrobiološki laboratorij i predaje iz ruke u ruku jer su tipični bakterijski uzročnici meningitisa vrlo osjetljivi na vanjske uvjete. Iz likvora se najprije pripremi izravni mikroskopski preparat, a zatim se nasađuje na obogaćenu krutu i tekuću hranjivu podlogu. U slučaju odložene dostave čuvati ga u termostatu na 35°C ili na sobnoj temperaturi maksimalno 24 sata. Ne stavljati u hladnjak. Obrada likvora započinje odmah nakon dostave u mikrobiološki laboratorij. U slučaju pozitiviteta, radi se identifikacija i test osjetljivosti (antibiogram). Ako je kultura likvora negativna, nalaz se izdaje kao sterilan nakon 4 dana inkubacije. **Najčešće greške:** likvor nije inokuliran u sterilnu epruvetu- bez dodataka za biokemijske pretrage; likvor je dostavljen ohlađen ispod temperature tijela; likvor nije čuvan do dostave u termostatu.<sup>(11,12)</sup>

### **3.2.2. Koža, meka tkiva i punktati**

#### **Bris rane**

Rane su podložne kolonizaciji ili kontaminaciji mikroorganizmima normalne fiziološke flore kože. Zato je bris rane najmanje pogodan uzorak za mikrobiološku dijagnostiku. Adekvatnim uzorcima smatraju se bioptat tkiva i aspirat eksudata rane. Ukoliko se ipak uzima bris, on treba biti uzet iz dubokih dijelova rane. Bris rane nije pogodan uzorak za izolaciju anaerobnih bakterija. Prije uzorkovanja, ranu treba dekontaminirati, odnosno ukloniti površinsku mikrofloru. Bris treba uzeti na mjestu koje se nakon toaleta rane antiseptikom još ispere i fiziološkom otopinom, da bi se isprao antiseptik i tako eliminirala mogućnost dobivanja lažno sterilnog rezultata. Uzorak se uzima suhim ili u fiziološkoj otopini navlaženim brisom, kojim se ulazi duboko u „džepove rane“ ne dotičući rubove kože. Pobrišu se dno i/ili rubovi rane, te se bris ostavi 30 sekundi da upije prisutni sadržaj. Postupak se ponovi s još jednim brisom (jedan za mikroskopski preparat, drugi za kulturu), te se precizno naznači koji je prvi, a koji drugi bris. Mikroskopski preparat daje informaciju o prisustvu leukocita -

polimorfonukleara; ukoliko leukociti nisu prisutni, tada je svaki mikrobiološki izolat zapravo samo kolonizacijska flora. Transportirati u laboratorij unutar dva sata, na sobnoj temperaturi. Ako transport traje duže (do 24h), staviti bris u transportnu podlogu i čuvati na sobnoj temperaturi. Dalje se radi kultivacija i test osjetljivosti na antimikrobne lijekove. Izolacija više od dvije vrste bakterija podrazumijeva neadekvatno uzet ili transportiran uzorak, te se preporuča ponoviti pretragu.

### **Biopat tkiva**

Uzorak se uzima tijekom kirurške operacije ili u postupku ciljane biopsije tkiva. Dezinficirati kožu na mjestu biopsije. Komadić tkiva uzetog iz primarno sterilnog medija odložiti u sterilnu posudu, u koju je prethodno aseptički naliven odgovarajući volumen sterilne fiziološke otopine ( da bi se spriječila dehidracija ). Tako se može transportirati u laboratorij unutar 15 minuta. Ukoliko se očekuju anaerobi, tkivo treba uroniti u transportni medij. Ako transport traje duže (do 24h), staviti u transportnu podlogu za anaerobe i čuvati na sobnoj temperaturi. Za izradu mikroskopskog preparata, vrlo mala količina uzorka mora ostati u sterilnoj posudi. **Najčešće greške:** tkivo nije čuvano inokulirano u transportni medij na sobnoj temperaturi, a očekuju se anaerobi ili je tkivo odloženo u sterilnu posudu bez dodatka sterilne fiziološke otopine, te je dehidrirano dostavljeno u laboratorij.

### **Punktati**

Postupak: 70 %-tnim alkoholom dezinficirati kožu; pričekati da alkohol ishlapi; punktirati. Punktati se ne preporuča pohranjivati u hladnjak, zbog očuvanja vitalnosti termolabilnih mikroorganizama. **Najčešće greške:** transkutanu punkciju izvoditi bez prethodne dezinfekcije kože, nakon dezinfekcije kože nesterilno palpirati mjesto punkcije, započeti punkciju prije nego što je alkohol ishlapio, očekivati uspješnu analizu, a u bočicu je inokulirana prevelika količina uzorka.

**Punktati sterilnih tjelesnih tekućina** (pleuralne, perikardijalne, peritonealne, zglobne, amnijske itd.)

Uzorci sterilnih tjelesnih tekućina i punktati uzimaju se u tijeku operacije ili perkutanom aspiracijom prema svim pravilima aseptičkog postupka. Uzorak punktirane

ili aspirirane tekućine može se u laboratorij transportirati u šprici tako da se istisne zrak iz šprice, a upotrijebljena igla se zamijeni novom iglom s poklopcem. Šprica s iglom donosi se u laboratorij na tvrdom podlošku, a ne u ruci. Najbolje je uzorak staviti u sterilnu epruvetu sa čepom i tako ga transportirati. Manja količina se može aseptično inokulirati u bočicu za hemokulturu. Uvijek je potrebno poslati što veći volumen tekućine (za izolaciju bakterija barem 1ml). Ako se uzorak šalje u sterilnoj posudici, mora doći u laboratorij unutar 15 minuta. Ako transport traje duže (do 24h), uzorke treba staviti u transportnu podlogu za anaerobe i čuvati na sobnoj temperaturi, ili u bočicu za hemokulturu i čuvati u termostatu na +37°C. Perikardijalna tekućina i uzorci za mikološku dijagnostiku se stavljaju u frižider na +4°C. Za izradu mikroskopskog preparata, vrlo mala količina uzorka mora ostati u sterilnoj posudi.<sup>(11,12)</sup>

### 3.2.3. Respiratorni uzorci

#### **Bris ždrijela**

Indikacije: bakterijske (streptokokne) infekcije ždrijela, virusne infekcije gornjeg dišnog sustava. Štapić za uzorkovanje označiti imenom i prezimenom pacijenta, vrstom uzorka i vremenom uzorkovanja. Sterilnom špatulom potisnuti jezik prema dolje. Debljim, sterilnim, krutim, neovlaženim štapićem za uzorkovanje obrisati tonzile, nepčani luk i stražnji zid ždrijela. Izbjegavati dodir s uvulom, jezikom, bukalnom sluznicom i slinom. Odmah po uzorkovanju dostaviti bris u mikrobiološki laboratorij. U slučaju odgođenog transporta štapić za uzorkovanje staviti u transportnu podlogu na temperaturu hladnjaka (+4°C). **Najčešća greška:** vatom brisa dotaknuti jezik ili bukalnu sluznicu.

#### **Bris vestibuluma nosa**

Indikacija: bris vestibuluma nosa se koristi u otkrivanju kliconoštva na MRSA (meticilin rezistentni *Staphylococcus aureus*). Koristiti tanki elastični štapić za uzorkovanje. Označiti ga imenom i prezimenom pacijenta, vrstom uzorka i vremenom uzorkovanja. Navlažiti štapić za uzorkovanje sterilnom fiziološkom otopinom te ga uvesti u nosnice oko 1-2 cm duboko. Rotirati štapić 10-15 sekundi po sluznici krila nosnica i septuma. Odmah po uzorkovanju dostaviti bris u mikrobiološki

laboratorij. U slučaju odgođenog transporta štapić za uzorkovanje staviti u transportnu podlogu na +4°C. **Najčešća greške:** površno, nedovoljno temeljito, obrisana sluznica; uzeti bris nazofarinksa, a ne bris vestibuluma nosa.

### **Bris nazofarinksa**

Indikacija: kliconoštvo na moguće respiratorne patogene. Štapić za uzorkovanje označiti imenom i prezimenom pacijenta, vrstom uzorka i vremenom uzorkovanja. Navlažiti štapić (tanki, elastični) sterilnom fiziološkom otopinom. Pacijent treba lagano zabaciti glavu unatrag. Podignuti prstom lagano vrh nosa (da se izravna nosni hodnik). Štapićem za uzorkovanje lagano ući kroz donji nosni hodnik do stražnjeg zida nazofarinksa. Štapić lagano rotirati oko 5 sekundi da se sekret adsorbira. Odmah po uzorkovanju dostaviti bris u mikrobiološki laboratorij. U slučaju odgođenog transporta štapić za uzorkovanje staviti u transportnu podlogu. Transportni medij osigurava preživljavanje potencijalnih patogena približno 48 do 72 sata, na sobnoj temperaturi ili temperaturi hladnjaka, ovisno o tome što zahtjeva uzorak. **Najčešće greške:** uzeti bris vestibuluma nosa; pohraniti uzorak u hladnjak, a očekuje se *N. meningitidis* ili *H. influenzae*.

### **Sputum**

Indikacija: bakteriološka, mikološka ili dijagnostika uzročnika tuberkuloze (*M. tuberculosis*). Iskašljaj ili sputum je ciljani uzorak za određivanje uzročnika bakterijske pneumonije i infekcija donjeg dišnog sustava. Moguća izolacija uzročnika infekcije ovisi o kvaliteti uzorka iskašljaja koja se procjenjuje mikroskopski, određivanjem odnosa epitelnih stanica i polimorfonukleara. U sterilnu posudicu se uzima prvi jutarnji iskašljaj nakon ispiranja usne šupljine sterilnom fiziološkom otopinom ili vodovodnom vodom bez upotrebe zubne paste. Uzorak se odmah šalje u mikrobiološki laboratorij ili pohranjuje kraće vrijeme na +4 °C (hladnjak). Uzimanje iskašljaja tri dana za redom povećava osjetljivost metode u otkrivanju uzročnika pneumonije. **Najčešća greške:** uzeti ispljuvak umjesto iskašljaja; prati zube ili dezinficirati tj. osvježavati usnu šupljinu nekim antiseptičkim sredstvom prije uzimanja uzorka.<sup>(11,12)</sup>

### **3.2.4. Probavni uzorci, mikološki i parazitološki uzorci**

#### **Stolica za bakteriološku pretragu**

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

#### **Stolica za virološku pretragu**

Uzorak stolice uzeti u prva 2-3 dana od početka simptoma (najbolje unutar 24 sata). Uzeti 2-3 ml tekuće stolice ili 1-2 g čvrste stolice (veličine lješnjaka) u čistu posudu s poklopcem na navoj. Uzorak treba odmah dostaviti u laboratorij, a ukoliko to nije moguće, uzorak može biti pohranjen na +4°C tijekom 48 sati.

#### **Stolica za parazitološku pretragu**

Tjedan dana prije uzimanja uzorka stolice, pacijent ne smije biti podvrgnut radiološkoj pretrazi probavnog sustava uz pomoć kontrastnog sredstva (irigografiji) niti endoskopskoj pretrazi crijeva (kolonoskopiji) jer ovi postupci umanjuju vjerojatnost nalaza crijevnih parazita. Potrebno je uzeti 2-3 ml tekuće stolice ili 1-2 g čvrste stolice (veličine lješnjaka). Uzorak dostaviti odmah ili ga pohraniti na +4°C tijekom 24-48 sati. Uzorkovanje ponoviti tri puta u razmacima od 2-3 dana.

#### **Stolica za mikološku pretragu**

Uzeti 2-3 ml tekuće stolice ili 1-2 g čvrste stolice (veličine lješnjaka) u čistu, plastičnu posudu te odmah dostaviti u laboratorij ili ga pohraniti na +4°C tijekom 24-48 sati. Uzorak stolice treba uzeti 7-10 dana nakon završene antibiotske terapije.

#### **Najčešće greške:**

- dostavljena je premalena količina stolice, a očekuje se bakteriološka, parazitološka i virološka analiza



- naziv „koprokultura“ je naziv za posebnu parazitološku analizu, a ne za bakteriološku analizu
- dostavljen je 1 uzorak stolice, a očekuje se parazitološka analiza
- dostavljena su 3 uzorka stolice za parazitološku analizu, ali uzorci nisu sakupljeni tijekom minimalno 10-ak dana, nego dan za danom ili je stolica dobivena jednom defekacijom podijeljena u 3 posudice za stolicu
- kod kontrole bakterijskog kliconoštva nisu se pravili razmaci od minimalno tjedan dana, između davanja pojedinog uzorka stolice, nego su dostavljeni uzorci uzimani dan za danom ili je stolica dobivena jednom defekacijom podijeljena u tri različite posudice
- očekivati uspješnu analizu *Enterobius vermicularis* iz uzorka stolice.

#### **Perianalni otisak** (za dokaz jaja *Enterobius vermicularis*)

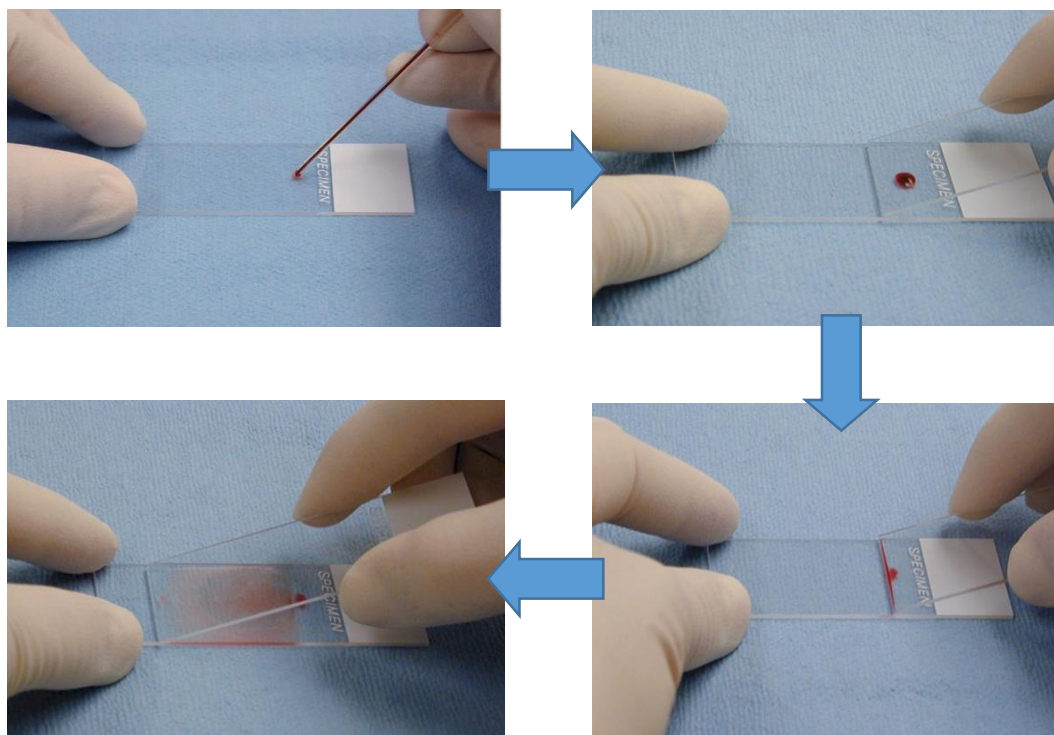
Perianalni otisak se uzima ujutro, prije higijene i defekacije. Pacijent se 12 sati prije uzorkovanja ne smije tuširati niti prati perianalno područje. Potrebno je raširiti gluteuse i nalijepiti ljepljivu traku (selotejp) preko perianalnih nabora uz blago pritiskanje. Traku zatim nalijepiti preko stakalca, pazeći da ne dođe do stvaranja mjehurića zraka. Predmetno stakalce staviti u papirnatu omotnicu i dostaviti u laboratorij tijekom 24 sata. Preporuča se ponavljati ovaj postupak 3-5 jutara (3-5 uzoraka) tijekom 10-ak dana, jer se paraziti ne izlučuju kontinuirano, nego sporadično. **Najčešće greške:** uzorak nije uziman prije izvođenja higijene i/ili defekacije; večer prije uzimanja uzorka analni je otvor tretiran nekom njegujućom kremom; nije uzimano nekoliko analnih otisaka tijekom 10-ak dana, nego se dobar rezultat očekuje od jednog uzorka; dostavi se stolica, a očekuje se *Enterobius vermicularis*.

#### **Krv za dijagnostiku malarije**

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

Izrada preparata krvnog razmaza:

Jednu kap krvi iz jagodice prsta pacijenta kapnuti na rub čistog, odmašćenog predmetnog stakalca (veličina 26×76 mm), a drugim stakalcem položenim pod kutom od 45° razvući kap krvi u jednom potezu. Osušiti na zraku i poslati u laboratorij. Razmaz se zatim fiksira metanolom i boji za daljnju dijagnozu.<sup>(13)</sup>



Slika 5. Pravilna izrada krvnog razmaza<sup>(13)</sup>

Izrada preparata guste kapi:

Na sredinu predmetnog stakalca kapnuti 2-3 kapi krvi i vrhom drugog stakalca spojiti kapi u krug promjera 1,0 cm. Osušiti na zraku i poslati u laboratorij. Gusta kap se ne fiksira, već odmah boji.

### **Krv za mikološku dijagnostiku**

Krv za mikološku dijagnostiku se uzima i dostavlja na isti način kao i za bakteriološku dijagnostiku (hemokultura). Ukoliko za vrijeme inkubacije hemokulture (1.- 7. dana) porastu kvasci, isti se mogu preliminarno identificirati FISH metodom (fluorescentnom in situ hibridizacijom).

### **Strugotina kože, vilišta i noktiju za mikološku dijagnostiku**

Pacijent ne smije 7 dana tretirati zahvaćeni dio tijela antibioticima i antifungalnim pripravcima niti uzimati sistemska antifungalna terapiju. S ruba kožne lezije ili nokta (na granici prema zdravom) sterilnim skalpelom uzeti strugotinu, spremi je u sterilnu posudu i što prije dostaviti u laboratorij. Ukoliko je zahvaćeno

vlasnište, lagano počupati 10-15 dlaka te ih što prije, u čistoj posudi, dostaviti u laboratorij.<sup>(11,12)</sup>

### **3.2.5. Urogenitalni uzorci**

#### **Urinokultura- metoda srednjeg mlaza**

- pretraga kojom se kvantitativno i kvalitativno određuje postojanje bakterija u mokraći<sup>(14)</sup>

Uzorak za dokazivanje infekcije mokraćnog sustava je prvi jutarnji urin. Ako je nemoguće dati prvi jutarnji urin, onda pacijent ne bi trebao mokriti 4 sata prije davanja uzorka urina. Urin u mokraćnom mjehuru je sterilan, kontaminacija urina bakterijama iz periuretralnog područja može utjecati na rezultate pretrage. Prije uzimanja uzorka, učini se pažljiva toaleta vulve kod žene, odnosno glansa penisa kod muškaraca. Urin se uzima u sterilnu posudu. Ujutro, prije prvog mokrenja, vanjske spolne organe treba oprati sapunom 2-3 puta odozgo prema dolje kod žena, odnosno od otvora uretre prema van kod muškaraca i temeljito isprati vodom, ne brišući ručnikom. Tijekom pranja i mokrenja žena drži rukom raširene labije, a muškarac podigne prepucij kako bi se izbjegla kontaminacija. Treba ispustiti prvi mlaz urina i ne prekidajući mokrenje, srednji mlaz urina uhvatiti u sterilnu posudu s poklopcem. Količina uzorka treba biti 5-10 ml. Posuda se ne smije prepuniti, da se ne bi prelila urinom i kontaminirala. Sterilnu posudu treba zatvoriti i što prije donijeti u mikrobiološki laboratorij (u vremenu ne duljem od 2 sata). Ako se očekuje da će transport do laboratorija trajati dulje od 2 sata, uzorak treba transportirati na +4°C. Vjerodostojnost rezultata ove pretrage je 95% kod muškaraca, te 80% kod žena.

#### **Najčešće greške:**

- uzorak je uzet bez prethodne temeljite „hiperhigijene“ spolovila
- prilikom mokrenja nisu bile razmaknute labije, tj. povučena koža spolovila pa je urin tekao po koži i sluznici spolovila
- prilikom mokrenja urin je tekao po prstima kojima držimo spolovilo
- uzimanje urina u bočicu je započeto prerano- nije dovoljno dugo pušten prvi mlaz pa nije isprana distalna uretra
- bočica za urin je otvarana satima/danima prije uzimanja uzorka

- poklopac bočice ili unutarnja strana je dirana prstima
- do dostave je urin bio pohranjen izvan temperature hladnjaka, a prošlo je više od 2 sata od uzorkovanja
- do dostave u laboratorij urin je čuvan na toplom mjestu (u džepu, na suncu, ...).<sup>(15)</sup>

### **Urin iz vrećice**

Ova vrsta uzorka prilično je zastupljena metoda dobivanja uzorka urina u pedijatrijskoj populaciji. Međutim, ovom metodom ne možemo dobiti, u većini slučajeva, nezagađeni uzorak; nemoguće je izbjeći fiziološku floru distalne uretre, a često je ovaj uzorak zagađen i bakterijama doplavljenim iz anogenitalnog područja. Zato se preporuča oprati spolovilo i cijelo anogenitalno područje vodom i sapunom nekoliko puta („hiperhigijena“). Oprano područje osušiti sterilnom gazom (ili dobro izglaćanim ručnikom ili izglaćanom tekstilnom pelenom). Na tako pripremljenu, suhu kožu spolovila zalijepiti vrećicu ne dodirujući je s unutarnje strane; također ne dodirivati kožu nakon pranja, a prije lijepljenja vrećice. Zagađeni (kontaminirani) uzorak nije prihvatljiv za mikrobiološku analizu, pa će se postupak uzimanja morati ponavljati dok se ne dobije odgovarajući uzorak. **Najčešće greške:** oprana koža je dodirivana prstima prije lijepljenja vrećice; vrećica se pokušava zalijepiti na još vlažnu kožu; nakon pranja, koža nije obrisana sterilnim materijalom.

### **Kateter- urin**

- podrazumijeva urin dobiven kateterom

Ravni, privremeni, kateter:

Oprati uretralno ušće vodom i sapunom i /ili prikladnim antiseptikom. Isprati sterilnom fiziološkom otopinom. Obrisati ušće sterilnim tupferom. Aseptički uvesti kateter u mokraćni mjehur. Pustiti prvi volumen mokraće da slobodno da ispere eventualne komezale (bakterije koje naseljavaju neko područje, ali ne izazivaju infekciju). Tek tada uzeti urin kao uzorak, u sterilnu posudu.

Trajni kateter:

Izbjegavati za uzimanje uzorka urina, jer je trajni kateter obično koloniziran bakterijama. Treba dezinficirati kateter 70%-tnim alkoholom na sredini između tijela

bolesnika i prvog spoja s drugim dijelom sistema (spojevi različitih sistema su mjesta koja su češće od ostalih dijelova tog istog sistema kolonizirani tj. naseljeni bakterijama). Nakon što alkohol ishlapi, štrcaljkom i iglom uzeti 5-10 ml urina, te ga aseptički aplicirati u sterilnu posudu (ili ga dostaviti u istoj štrcaljki). **Najčešće greške:** uzorak urina je uziman iz vrećice sistema trajnog katetera; nije provedena dezinfekcija mjesta punkcije katetera; uzorak iz sistema trajnog katetera izabran je kao dobar uzorak otkrivanja potencijalnog uzročnika infekcije.

#### **Urin dobiven suprapubičnom punkcijom**

Nakon dezinfekcije kože učiniti punkciju. Urin dobiven punkcijom aseptički aplicirati u sterilnu posudu (ili ga dostaviti u istoj štrcaljki). Iz ovakvog uzorka je moguća izolacija anaerobnih bakterija.

#### **Urin za dokaz infekcije mikoplazmama i ureaplazmama**

Uzorak mora biti prvi mlaz prve jutarnje mokraće, daljnji postupak je isti. Nalaz uključuje identifikaciju, kvantifikaciju i antibiogram urogenitalnih mikoplazmi.

#### **Urin za dokaz *Trichomonas vaginalis***

Uzorak je prvi mlaz prve jutarnje mokraće, bris rodnice žene ili ejakulat koji je potrebno dostaviti u laboratorij u sterilnoj i zatvorenoj posudi u roku od 2 h na temperaturi od 30-37 °C (u džepu ili prijenosnom termostatu). Za sada se ne radi kultura, već samo izravna mikroskopija.

#### **Urin za dokaz *Chlamydia trachomatis***

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

#### **Urin za dokaz shistosomijaze**

Za dokaz shistosomijaze treba uzeti zadnji mlaz prve jutarnje mokraće i dostaviti u laboratorij najkasnije za 48 sati.

Napomene:

- nikada ne slati mokraću iz noćne posude, 24-satnu mokraću ili vršak katetera za mikrobiološku pretragu
- testiranje se provodi 3-4 dana nakon terapije antibioticima
- mikrobiološka obrada urina traje 1-5 dana. Na infekciju mokraćnog sustava upućuje patološka leukociturija i signifikantna bakteriurija (više od 100.000 bakterija u 1 ml urina).

### **Bris uretre**

a) muškarac:

Upozoriti bolesnika da ne smije mokriti prije pretrage minimalno 4 sata, te da izvrši higijenu spolovila vodom i sapunom. Neposredno prije uzimanja brisa, povući prepucij prema tijelu, te ušće uretre očistiti tupferom namočenim sterilnom fiziološkom otopinom. Ukoliko postoji iscjedak, uzeti ga brisom ili direktno kapnuti na predmetno stakalce. Ovakav bris je potrebno odmah dostaviti u mikrobiološki laboratorij u ruci, da se spriječi hlađenje ispod tjelesne temperature i da se spriječi sušenje uzorka. Namočiti briseve sterilnom fiziološkom otopinom (prvi bris- za analizu na mikoplazme, drugi bris- za analizu na *Chlayidia trachomatis*, treći bris – za analizu prisustva HPV-a). Ne dodirujući kožu glansa uvesti bris u uretru 2-4 cm duboko i rotirati bris oko 2-3 sekunde. Efikasno izbrisati stijenku uretre, da bismo u uzorku dobili stanice, jer će se iz ovog uzorka analizirati intra- i epi- celularni mikroorganizmi. Za dobru dijagnostiku HPV-a, obavezno dobro obrisati vanjsko spolovilo, naročito mjesta ispod prepucija i sve nabore, kao i kožu oko spolovila.

b) žena:

Uzorak uzeti prilikom ginekološkog pregleda. Upozoriti bolesnicu da ne smije mokriti minimalno 4 sata. Pripremiti briseve s tankom glavom. Namočiti ih sterilnom fiziološkom otopinom, kao i jedan sterilni tupfer. Obrisati ušće uretre sterilnim tupferom i prvim brisom, koji se mora odbaciti. Drugi bris, pa potom treći uvesti u uretru i rotirajući ih efikasno izbrisati stjenku da bismo dobili stanice.

Pohrana: uzorci se pohranjuju na temperaturu hladnjaka (+4°C). Uzorak za mikoplazme mora se razmutiti u transportnom mediju, koji se potom sprema do dostave u hladnjak. Uzorak za analizu klamidije ( imunofluorescentna metoda ) mora se nanijeti na jažicu stakalca iz seta za klamidije te se nakon sušenja mora prelitati tekućinom iz plastične ampule iz seta. Kada se i to osuši, cijeli se set sprema u hladnjak do trenutka dostave. Uzorak za analizu klamidije i/ili HPV-a (PCR metoda) uroniti u odgovarajući transportni medij i pohraniti u hladnjak do dostave.

**Najčešće greške:** bris je uzet, a nije prošlo minimalno četiri sata od posljednjeg mokrenja (mlaz mokraće otplavi i potencijalne patogene); bris je uzet prenježno (nisu obrisane stanice, a očekuju se epi- i intra- celularni mikroorganizmi); bris je uveden preplitko u uretru (neodgovarajući materijal za analizu); prvi bris nije odbačen, nego je poslan kao uzorak za analizu (takav bris sadrži površinske epitelne stanice i/ili sluz, te je i u jednom i u drugom slučaju onemogućena odgovarajuća analiza).

### **Ejakulat**

Preporučljivo je seksualno apstinirati nekoliko dana prije davanja uzorka. Obvezno naglasiti bolesniku da, prije uzimanja ejakulata, mokri i izvrši temeljitu higijenu spolovila vodom i sapunom, da se izbjegne zagađenje uzorka bakterijama koje su sastavni dio fiziološke flore distalne uretre i kože spolovila. Ejakulirati u sterilnu bočicu sa širokim otvorom, ne dodirujući prstima unutrašnju stjenku bočice. Pohrana je 2 sata na sobnoj temperaturi, a više od 2 sata na temperaturi hladnjaka (+4°C). **Najčešće greške:** nije učinjena prethodna odgovarajuća toaleta; nije se mokrilo prije toalete i uzimanja uzorka.

### **Bris cerviksa**

Uzorak uzeti prilikom ginekološkog pregleda. Upotrijebiti briseve s debljom pamučnom glavom. Sterilnim tupferom odstraniti sluz i floru rodnice. Prvi bris odbaciti (to je sluz i flora rodnice). Tek potom, sljedećim brisevima, efikasno obrisati endocerviks. Drugi bris uzeti kao uzorak za eventualnu bakteriološku analizu. Treći bris uzeti kao uzorak za analizu na mikoplazme. Četvrti bris uzeti kao uzorak za analizu klamidije i/ili za analizu HPV-a.

Pohrana: uzorci se pohranjuju na temperaturu hladnjaka (+4°C). Uzorak za aerobe uroniti u transportni medij i pohraniti na sobnoj temperaturi, zbog očuvanja vitalnosti mikroorganizama. Ostalo sve vrijedi kao i za uzorak uretre.

**Najčešće greške:** nije odstranjena sluz, sterilnim tupferom i odbačenim prvim brisom, s mjesta odakle će se uzeti materijal za analizu; nije uzorak uzet dovoljno energično, pa nema dovoljno ili nema uopće materijala koji je potreban za uspješnu analizu (lažno negativan nalaz); obrisani materijal nije natapkan na jažicu stakalca seta za klamidije, nego je nehotečno raznesen, tj. razmazan na neprozirni dio stakalca.

Kod asimptomatskih bolesnika sa sumnjom na klamidijsku infekciju ili kod sumnje na kontaktno kliconoštvo, trebalo bi se uzorak obraditi molekularnom metodom detekcije (PCR), jer je metoda daleko osjetljivija, nego dijagnostika direktnom imunofluorescencijom. Bris se uroni u transportni medij, odlomi vršak brisa, zatvori epruveta s medijem i označi imenom pacijentice. Ovako transportiran, bris može stajati na sobnoj temperaturi do dolaska u laboratorij. Za pretragu se sakupljaju uzorci do dovoljnog broja.<sup>(11,12)</sup>

### 3.2.6. Serološke pretrage

Uzorak je serum odvojen iz uzorka bolesnikove krvi i uzet prvih nekoliko dana od početka bolesti. Za serološke pretrage uzima se 8-10 ml (3-4 ml u djece) venske krvi u sterilnu epruvetu bez antikoagulansa te se uzorak ili odmah šalje u laboratorij ili se ostavi na sobnoj temperaturi dok se ne stvori ugrušak, koji se lagano odvoji staklenim štapićem, krv se centrifugira, te se odvoji serum i spremi ili u hladnjak na kraće vrijeme ili se zamrzne na -20°C za dulje čuvanje. U slučaju da se šalje već izdvojeni serum potrebno ga je držati do dolaska u hladnjaku te pri transportu osigurati iste uvjete. Opetovana zamrzavanja i odmrzavanja seruma treba izbjegavati. Nikad se ne smije zamrznuti uzorak čitave krvi, jer to uzrokuje hemolizu, a takav uzorak je neuporabljiv za serološka testiranja.<sup>(10)</sup> Rade se pretrage za dokazivanje:

- protutijela na bakterijske antigene u serumu bolesnika
- reumatoidnih stanja i autoimunih bolesti
- stvaranja interferona-gama na peptidne antigene *Mycobacterium tuberculosis*
- protutijela na virusne antigene



- protutijela na antigene tkivnih parazita.<sup>(11,12)</sup>

### 3.2.7. Uzorci za molekularnu dijagnostiku

#### **Infekcije uzrokovane HBV i HCV**

Radi se kvantitativan test na HBV (određivanje broja kopija HBV DNK u ml krvi) i kvantitativan test na HCV (određivanje broja kopija HCV RNK u ml krvi, genotipizacija HCV virusa). Uzorak: krv uzeta u epruveti s EDTA (ljubičasti čep), pretraga se radi iz izdvojene plazme.

#### **Infekcije uzrokovane Cytomegalovirusom i Epstein-Barr virusom- kvantitativni test**

Uzorak: krv uzeta u epruveti s EDTA (radi se iz izdvojene plazme), može se poslati i urin, likvor (ljubičasti čep). Dokaz nukleinskih kiselina virusa nije pretraga koja se radi rutinski za dokaz CMV ili EBV-uzrokovane infektivne mononukleoze (serologija ima prednost), već u iznimnim stanjima problematične diferencijalne dijagnoze, infekcija novorođenčadi, imunokompromitirane populacije (AIDS, transplantirani) i sl.

#### **Infekcije Herpes simplex virusom 1 i 2- kvalitativan test**

Uzorak: cerebrospinalna tekućina-likvor ili bris dna herpetične lezije koji se stavlja u malo sterilne fiziološke otopine. Uzorci se dostavljaju što prije u laboratorij.

#### **Dokaz DNK *C. trachomatis* metodom real-time PCR**

Uzorak: cervikalni bris (žene), bris uretre (muškarci), urin (žene i muškarci). Deblji priloženi bris služi za cervikalni obrisak, a tanji za bris uretre. Urin se daje u sterilnoj polipropilenskoj urinskoj čašici i u roku od 24 sata, bolje što prije, dostavlja u laboratorij.<sup>(11,12)</sup>

### 3.2.8. Kriteriji za odbacivanje uzorka

- uzorak se nikada ne baca bez konzultacije s odgovornom osobom na odjelu (osim ako je u posudi koja propušta)
- neoznačeni uzorak
- produljeni transport

- nesterilna posuda
- sputum kontaminiran orofaringealnom florom (saliva)
- dvostruki uzorak poslan u isto vrijeme
- nedovoljna količina uzorka
- uzorci neprikladni za anaerobnu kultivaciju poslani sa zahtjevom za anaerobnu kultivaciju.<sup>(7)</sup>

### **3.3. Dijagnostičke metode u mikrobiologiji**

Da bi došli do dijagnoze iz mikrobioloških uzoraka, moramo ih obraditi nizom dijagnostičkih postupaka koji nam pomažu u identifikaciji mikroorganizama. Karakteristike koje se koriste u klasifikaciji i identifikaciji mikroorganizama su:

1. morfološke karakteristike kolonija- svaka vrsta bakterija ima karakterističan tip kolonija na hranjivoj podlozi
2. morfološke karakteristike bakterija- oblik stanice, veličina, bojanje po gramu, raspored flagela, oblik i smještaj endospora
3. fiziološke i biokemijske karakteristike- odnose se na prirodu i aktivnost bakterijskih enzima i transportnih proteina, izvor C i N, izvori energije, produkti fermentacije, sekundarni metaboliti, osmotska tolerancija, osjetljivost na metaboličke inhibitore i antibiotike, pH optimum
4. antigenske karakteristike- imunološke tehnike koriste se za komparaciju proteina različitih mikroorganizama
5. genetske i molekularne karakteristike - jedan od najvažnijih pristupa taksonomiji nastao kroz analize proteina i analize nukleinskih kiselina.<sup>(16)</sup>

Etiološko postavljanje dijagnoze uključuje pravilno odabran, uzet i poslan uzorak, te primarno nesterilne i primarno sterilne uzorke.

Direktne metode:

- mikroskopiranje
- kultivacija
- biokemijske osobine
- detekcija antigena
- detekcija nukleinskih kiselina (gena).

Indirektne metode:

- serološke metode detekcije antitijela.

U konvencionalnoj mikrobiološkoj dijagnostici treba obratiti pažnju na:

- lažno negativne rezultate- neadekvatno uzet materijal, neadekvatan transport materijala, nepravilno popunjena uputnica za analizu
- lažno pozitivne rezultate- kontaminacija mikroorganizmima prilikom uzimanja materijala (mikroorganizmima koji predstavljaju dio fiziološke mikroflore ili mikroorganizmima iz okoline)
- fiziološku mikrofloru- mikroflora se nalazi na koži i sluznicama. Mikroflora se sastoji od bakterija, u manjem broju gljiva i rijetko od pojedinih vrsta parazita. Virusi nisu dio fiziološke mikroflore (intracelularni paraziti). Fiziološku mikrofloru čine apatogeni i uvjetno patogeni mikroorganizmi koji pod posebnim uvjetima mogu da izazovu bolest
- kvantificiranje mikroorganizama- najčešće se radi s ciljem da se utvrdi da li se radi o infekciji ili kontaminaciji uzorka mikroflorom i to obično za urin i bris ždrijela
- antibiogram / antimikogram.<sup>(17)</sup>



Slika 6. Cilj mikrobiološke obrade uzoraka<sup>(7)</sup>

### 3.3.1. Obrada uzoraka bakterijskih infekcija

U laboratorijskoj dijagnostici bakterijskih infekcija prvi je postupak mikroskopski preparat iz uzorka, ili se u uzorku izravno dokazuje antigen, odnosno nukleinska kiselina bakterije- neizolacijske metode. Zatim se uzorak može nasaditi na bakteriološke podloge te se dobiva izolat koji i danas smatramo „zlatnim standardom“ u bakteriološkoj dijagnostici- izolacijska metoda. Izolat se zatim identificira različitim fenotipskim metodama ili metodama molekularne dijagnostike (PCR). Izoliranom soju određuje se i osjetljivost na antibiotike (antibiogram).<sup>(10)</sup>

#### Mikroskopski preparat

Mikroskopski preparat u mikrobiologiji priprema se uvijek iz primarno sterilnih uzoraka, ali i iz primarno nesterilnih u posebnim indikacijama. Preparati mogu biti neobojeni (nativni) i obojeni (fiksirani). Najčešća bojenja koja se primjenjuju u rutinskom bakteriološkom laboratoriju su bojenja po Gramu, metilenskim modrilom te po Ziehl-Neelsenu. Preparat se radi tako da se mali dio uzorka (jednako tako i jedna kolonija iz kulture) razvuče po predmetnom stakalcu ezom (ušicom), osuši na zraku te fiksira plamenom ili metanolom. Nakon toga se boji. Osjetljivost metode izravnog mikroskopiranja obično je vrlo niska (da bi preparat bio pozitivan, u 1 ml uzorka treba biti najmanje  $10^4$ - $10^5$  bakterija), a specifičnost ovisi o metodi bojenja i vrsti bakterije.

#### Bojenje po Gramu:

- najvažnije diferencijalno bojenje u mikrobiologiji koje se bazira na različitoj građi stanične stjenke pa razlikujemo gram+ i gram- bakterije. Preparat se prelije ljubičastom bojom- kristalvioletom, na koji se dodaje lugol koji boju veže za staničnu stjenku. Zatim se provede odbojavanje aceton-alkoholom i vodom, da bi se isprao kristalviolet iz stjenke gram- bakterija, ali ne i gram+, nakon ispiranja vodom dodaje se karbolfuksin, te gram+ bakterije ostanu plavo-ljubičaste, a gram- postanu crvene. Na rezultate bojenja može utjecati starost bakterijske kulture, sastav hranjive podloge, debljina razmaza, trajanje pojedinih operacija bojenja.

Bojenje metilenskim modrilom:

- nespecifično bojenje koje koristimo jer ne mijenja znatno stanične elemente u preparatu (leukocite, epitelne stanice) te je moguće procijeniti kvalitetu uzorka, ali i morfologija bakterija je bolje očuvana negoli bojenjem po Gramu, te se često lakše uočavaju tipični oblici bakterija. Izvodi se tako da se na fiksirani preparat nalije metilensko modrilo, a nakon nekog vremena preparat se ispere vodom.

Bojenje po Ziehl-Neelsenu:

- specifično se oboje acidorezistentne bakterije, najčešće *Mycobacterium tuberculosis*. Prva boja, karbolfuksin, primjenjuje se tako da se preparat istodobno zagrijava, zatim se ta boja pokuša skinuti kiselim alkoholom, te se na kraju doda kontrastna boja (metilensko modrilo). Bakterija se oboji u crveno, a pozadina preparata postane plava.

**Predmetno staklo- preporuke kako bi se izbjegle najčešće greške:** bezbojno staklo, otporno na koroziju; potpuno suho i čisto staklo, glatke površine, bez prašine i masnog sloja; ne koristiti razbijena stakla; stakla trebaju biti s matiranim dijelom pogodnim za obilježavanje uzorka, te s izbrušenim rubovima.

### **Kultura bakterija**

Većina se bakterija dobro umnožava na umjetnim podlogama, za razliku od virusa koji se umnožavaju samo u živim stanicama. Uzorke za bakterijsku kulturu nasadujemo na različite krute i tekuće podloge, u koje su dodane hranjive tvari potrebne za rast bakterija. Krvni agar se najčešće rabi za izolaciju bakterija. Neke bakterije rastu na jednostavnim podlogama bez posebnih dodataka, a drugima trebaju podloge obogaćene različitim dodacima. Ako želimo kultivirati neku određenu bakteriju koja se u uzorku nalazi zajedno s bakterijama normalne flore, u podlogu se dodaju tzv. čimbenici selektivnosti, a takve se podloge nazivaju selektivnima. Postoje još i diferencijalne podloge koje sadržavaju neku tvar kojom se koristi samo tražena bakterija, pa će se ona izdvojiti od ostalih pomoću indikatora uporabe te tvari. Kultura bakterija zasad je „zlatni standard“ u bakteriološkoj dijagnostici, sa specifičnošću koja je gotovo 100%. Osjetljivost, međutim, vrlo varira, i to zbog načina uzimanja i transporta uzorka, i zbog kvalitete podloga u laboratoriju i zbog (ne)iskustva laboratorijskog osoblja.

Osnovni sastav bakterioloških podloga jesu voda, agar, čimbenici rasta te krv (nekoagulirana konjska ili ovčja krv). Krute podloge omogućuju rast bakterija u obliku vidljivih kolonija. Čiste kolonije porasle na primarnoj ploči rabe se za subkultivaciju na sekundarnoj ploči. Porasle bakterije na sekundarnoj ploči rabe se za identifikaciju biokemijskim, serološkim i drugim postupcima. Obilježja kolonija pomažu u identifikaciji, a brojenjem kolonija se može odrediti i količina bakterija prisutnih u testiranom uzorku. Tekuće podloge se rabe za učinkovitiji rast malobrojnih bakterija prisutnih u uzorcima s razrijeđenim antibioticima, te za ispitivanje njihove biokemijske aktivnosti u svrhu identifikacije. One omogućuju rast specifičnih bakterija uz istodobnu inhibiciju rasta komenzalnih koje su prisutne u uzorku; to su tzv. obogaćene podloge. Posebne podloge jesu za hemokulturu- radi se s tekućom podlogom pri aerobnim i anaerobnim uvjetima. Bolesnikova se krv prenese u aseptičnim uvjetima u obogaćenu podlogu koja sadržava antikoagulans. Svakodnevno se provjerava dolazi li do zamućenja ili stvaranja plina. Druga posebna podloga je transportna- za prenošenje kliničkih uzoraka bolesnikova materijala od bolesnika do mikrobiološkog laboratorija. One usporavaju smrt mikroorganizama prisutnih u uzorku.

Bakterijske se podloge, nakon inokulacije uzorka, inkubiraju u aerobnim ili anaerobnim uvjetima. Optimalna temperatura rasta za većinu medicinsko značajnih bakterija je 37°C. Samo mali broj bakterija može rasti pri višim ili nižim temperaturama od 37°C. **Najčešće greške:** odabir krive vrste podloge, pogrešna temperatura inkubacije.

### **Identifikacija bakterija**

Identifikacija je razvrstavanje bakterija na temelju njihovih obilježja- utvrđivanje značajki poraslih kolonija, npr. određivanje veličine i oblika, izgled površine i ruba, prisutnost boje i mirisa, te učinak na eritrocite (hemoliza:  $\alpha$  ili  $\beta$ ; odsutnost-  $\gamma$ ), zatim određivanje morfologije mikroskopiranjem obojenih pripravaka, te utvrđivanje uvjeta rasta (aerobni ili anaerobni; rast na selektivnim ili obogaćenim podlogama). Navedena nam obilježja pomažu pri razvrstavanju bakterija u određene skupine, potom slijedi biokemijska i serološka identifikacija, a za neke vrste (*Salmonella*) i fagotipizacija.

Biokemijska identifikacija:

- svaka vrsta bakterija zbog velikog broja raznovrsnih enzima ima određena biokemijska obilježja, pa se testira sposobnost fermentacije (anaerobna razgradnja) ili asimilacije (aerobna razgradnja) šećera i enzimski potencijal- bakterije rastu u prisutnosti samo onog supstrata koji odgovara sadržaju njezina enzima. Ako bakterija izlučuje odgovarajuće enzime oni će reagirati sa supstratom i ta se reakcija očituje promjenom boje. No, katkada neke vrste bakterija mogu imati ista biokemijska obilježja. U tim se primjerima tipiziraju postupcima serotipizacije- razlikovanje bakterija prema antigenskoj građi; fagotipizacije- razlikovanje na temelju osjetljivosti prema bakteriofagu; genotipizacije- tipiziranje pomoću genskih molekularnih proba i bakteriocinske tipizacije- proteini koji inhibiraju rast drugih bakterija iste vrste.

### **Aglutinacija- imunološka metoda**

Aglutinacija na stakalcu:

- za identifikaciju određenih serotipova nekih bakterija (npr. *Salmonella*, *Shigella*) rabe se pripravci poznatih specifičnih protutijela. Na predmetnom se stakalcu u nekoliko kapi seruma sa specifičnim protutijelima umuti ispitivani soj s krute podloge- pozitivna reakcija očituje se tvorbom vidljivih aglutinata.

Lateks-aglutinacija:

- lateks-čestice obavijene su specifičnim protutijelima za određene bakterijske i gljivične antigene. Test se izvodi na isti način kao i aglutinacija na stakalcu.

### **Nalaz antigena ili DNA- brzi testovi**

Testovi nalaza antigena su vrlo specifični, no osjetljivost im ovisi o količini bakterija u uzorku, tako da negativni test ne znači uvijek da nema bakterije. Nalaz DNA u uzorku ima vrlo visoku dijagnostičku vrijednost. Specifičnost je metoda molekularne mikrobiologije oko 100%, kao i izolacije u kulturi, dok bi osjetljivost teoretski, također trebala biti blizu 100%, ali zbog tehničkih razloga zasad nije toliko visoka. Problemi se osobito vežu za primarno nesterilne uzorke, tako da se u rutinskom radu upotrebljavaju samo standardizirani komercijalno dostupni testovi.

## **Metode testiranja osjetljivosti na antibiotike**

Testiranje osjetljivosti bakterija na antibiotike jedan je od primarnih zadataka mikrobiološkog laboratorija. Testiranje se provodi standardiziranim metodama, u Republici Hrvatskoj prema europskom standardu.

### **Dilucijska metoda:**

- kvantitativna; provodi se uglavnom u bujonu, i to za bakterije izolirane iz likvora i hemokultura. U epruvetu s dvostruko serijski razrijeđenim antibiotikom dodaje se ispitivani soj bakterije. Promatra se porast nakon inkubacije koji se očituje zamućenjem tekuće podloge. Koncentracija antibiotika u prvoj bistroj epruveti u nizu, tj. u epruveti bez porasta označava MIK- minimalnu inhibitornu koncentraciju (najnižu koncentraciju koja inhibira rast bakterija). Potom se ne zamućeni bujoni presade na krutu podlogu bez antibiotika i inkubiraju 24 sata. Prva koncentracija antibiotika koja u potpunosti onemogućava porast bakterija na podlozi očitava se kao MBK- minimalna baktericidna koncentracija (najniža koncentracija antibiotika koja ubija 99.9% bakterija i u pravilu je veća od MIK-a).

### **Difuzijska metoda:**

- semikvantitativna; provodi se tako da se na krutu podlogu nasadi određena količina bakterije, te se na tako nasadeni soj odmah nanese papirnati diskovi s točno određenom količinom antibiotika, koji difundira u podlogu te, ako je djelotvoran, inhibira rast bakterije. Izostanak rasta se naziva zonom inhibicije. Mjeri se njezin promjer i izražava u mm. Prema toj veličini testirani soj se svrstava u osjetljiv (S), umjereno osjetljiv ili otporan (R). Dobro standardizirana disk-difuzijska metoda daje rezultat koji izvrsno korelira s dilucijskom metodom.

### **E-test:**

- kombinacija prve dvije tehnike; na papirnoj vrpici nanese su različite koncentracije antibiotika, na krutu podlogu nasadi se određena količina bakterije i na taj sloj se odmah stavi trakica E-testa te inkubira 18-24 sata na 35-37°C. Uočava se zona inhibicije ovalnog oblika i očitava brojčana vrijednost na trakici koju siječe rub zone kao MIK.<sup>(8,10)</sup>



### 3.3.2. Obrada uzoraka virusnih infekcija

Laboratorijska dijagnostika virusnih infekcija provodi se izravnim dokazom virusa ili njegovih antigena ili nukleinskih kiselina u biološkom uzorku citološkim i molekularnim metodama, imunohistokemijskim postupcima, otkrivanjem virusnih proteina i elektronskom mikroskopijom ili se pak infekcija dijagnosticira dokazom porasta titra protutijela u bolesnikovu serumu najčešće imunoenzimskim i imunofluorescentnim postupcima.

#### Serološke metode

- utvrđivanje postojanja i količine protutijela u bolesnikovu serumu uz uporabu poznatih virusnih specifičnih antigena

#### Titir protutijela:

- recipročna vrijednost maksimalnog razrjeđenja seruma pacijenta u kojem još uvijek imamo aktivnost prema specifičnom antigenu. Očitava se zadnje razrjeđenje u kojem još ima pozitivne serološke reakcije.

#### Reakcija vezanja komplementa (RVK):

- prije reakcije serum se toplinski obradi u vodenoj kupelji na 56°C kroz 30 minuta radi inaktivacije bolesnikovog komplementa u serumu. Postupkom se dokazuje prisutnost kompleksa antigen-protutijelo s pomoću aktiviranog komplementa; ako se komplement veže za kompleks, tada izostaje liza eritrocita u indikatorskom sustavu (ovčji eritrociti + hemolizin) pa oni padaju na dno epruvete. U suprotnome, ako u testiranom serumu nema protutijela, komplement se ne veže za kompleks, nego dolazi do razaranja eritrocita pomoću hemolizina. Za očitavanje titra protutijela se gleda zadnja epruveta u kojoj ne dolazi do razaranja eritrocita.

#### ELISA- neizravni imunoenzimski test:

- virusni su antigeni vezani za nosač reakcije (dno bazena mikrotitarske pločice) radi hvatanja i odvajanja specifičnih protutijela iz testiranog uzorka seruma. Protutijela vezana za antigen, ako postoji kompleks, dokazuju se s pomoću protutijela na ljudske imunoglobuline obilježene enzimom- konjugata. Vezuje se konjugat na kompleks i razina protutijela se određuje spektrofotometrijski na osnovi intenziteta boje nastale

enzimskom promjenom radi vizualizacije upotrijebljenog supstrata. Boja unutar jažice se promijeni u žuto i zadnja jažica s bojom predstavlja titar. Metodom se može odrediti točno određeni razred protutijela (klasa imunoglobulina). Također, s pomoću monoklonskih protutijela, obilježenih bojom ili enzimom, može se u krvnim stanicama (leukocitima, limfocitima) ili serumu bolesnika odrediti prisutnost virusnih antigena. U uzorak krvi koji se planira testirati na antigene u krvnim stanicama treba obavezno staviti antikoagulans, za razliku od uzorka krvi predviđenog za serološka testiranja.<sup>(8,10)</sup>

### **3.3.3. Obrada uzoraka gljivičnih infekcija**

Laboratorijska dijagnostika gljivičnih bolesti obuhvaća konvencionalne metode kao što su mikroskopski pregled kliničkih uzoraka, kultivacija i identifikacija poraslih gljiva, te novije metode detekcije gljivičnih antigena i nukleinskih kiselina od kojih se u budućnosti mnogo očekuje. Pravilno odabran, uzet, poslan i pohranjen uzorak bolesničkog materijala preduvjet je za postavljanje dijagnoze gljivične bolesti. Uzorak treba što prije dostaviti u mikološki laboratorij. Ako to nije moguće, uzorak treba čuvati na 4°C najdulje 10-15 sati. Krv i koštana srž pohranjuju se na sobnoj temperaturi najdulje 9 sati.

Za mikroskopiranje uzorka rabe se neobojeni i obojeni preparati. Neobojeni preparat uzoraka čvrstih materijala (vlasi, strugotina kože i nokata) priprema se pomoću 10-20% kalijeve lužine koja otapa keratin i olakšava pronalazak gljivičnih oblika (hife). Kapsula kvasca dokazuje se iz uzorka likvora, mokraće i pleuralnog punktata s pomoću tuša. Za otkrivanje prisutnosti kvasaca i plijesni može se upotrijebiti vlažni preparat uzoraka (iskašljaj, stolica, bronhoalveolarni lavat). Gljivični oblici mnogo se lakše uočavaju u obojenom pripravku; najčešće metilenskim modrilom, po Gramu i Giemsa-Romanovskom, fluorescentnom bojom radi lakše detekcije stanične stijenke gljiva. Mikroskopski je pregled kliničkih uzoraka nezaobilazan u dijagnostici gljivičnih bolesti, iako su pri tome mogući lažno pozitivni i lažno negativni rezultati, a metoda je manje osjetljiva od kulture.

Gljive se mogu uzgojiti na brojnim neselektivnim i selektivnim hranjivim podlogama, a najčešće se upotrebljava Sabouraudova hranjiva podloga. Podloga s nasađenim primarno sterilnim uzorkom inkubira se pri 37°C, a ona s nesterilnim pri 25°C. Inkubacija traje približno 2-3 tjedna u aerobnim uvjetima.

Identifikacija kvasaca temelji se na ispitivanju njihovih fizioloških, biokemijskih i morfoloških osobina. Testom asimilacije ispituje se sposobnost kvasaca da razgrađuju šećer u prisutnosti kisika, a testom fermentacije sposobnost da razgrađuju šećer bez prisutnosti kisika. Rastom kvasaca na kukuruznom agaru ispituje se sposobnost stvaranja pseudomicelija i klamidospora. Za brzu identifikaciju primjenjuje se test klijanja- tijekom inkubacije poraslog sloja u ljudskom ili životinjskom serumu stvaraju se cilindrični izdanci (*Candida albicans*). Identifikacija plijesni zasniva se na izgledu i boji poraslih kolonija te na mikroskopskom izgledu karakterističnih plodnih struktura.

Imunodijagnostičkim metodama otkriva se prisutnost dijelova gljivične stanice (npr. površinski antigeni, kapsula) u uzorcima tjelesnih tekućina. U rutinskoj dijagnostici dokazuju se antigeni kapsule kvasca (tuš-preparat) i antigeni stanične stjenke testom lateks aglutinacije i imunoenzimskim testom. U brzoj dijagnostici gljivičnih infekcija mnogo se očekuje od molekularne metode lančane reakcije polimerazom (PCR) kojom se izravno u kliničkim uzorcima detektiraju nukleinske kiseline gljiva.<sup>(8,10)</sup>

**Najčešće greške molekularnih metoda:** greške pri obilježavanju; kontaminacija uzorka prilikom uzimanja ili obrade u laboratoriju; propadanje uzorka tokom transporta/čuvanja/obrade, male količine ciljne nukleinske kiseline; prisustvo inhibitora; odabir neodgovarajućih primera/proba.<sup>(17)</sup>

## 4. RASPRAVA

Pitanje sigurnosti bolesnika sve je aktualnije u sustavima zdravstvene skrbi svih razvijenih zemalja. Međutim, sustavi za otkrivanje nepovoljnih događaja, te inicijative za smanjenje postotka pogrešaka u medicini tek su u zametku. Laboratorijske usluge imaju ključnu ulogu kako u individualnoj, tako i populacijski utemeljenoj zdravstvenoj skrbi. Klinički se laboratoriji koriste mnogim različitim metodama da bi smanjili pogreške, pružili sigurnost bolesniku te poboljšali kvalitetu, uključujući pritom postupke za kontrolu kvalitete, programe osiguranja kvalitete, akreditaciju laboratorija i certifikaciju programa izobrazbe. Značajan napredak analitičkih tehnika, laboratorijskih uređaja, informacijskih tehnologija, automatizacije i organizacije omogućio je postizanje visokoga stupnja analitičke kvalitete tijekom proteklih 50 godina. Sve je to, pak, rezultiralo značajnim smanjenjem postotka pogreški, posebice analitičkih pogrešaka. Danas postoje čvrsti dokazi da većina laboratorijskih pogrešaka nije povezana s analitičkom fazom te da su predanalitički i poslijeanalitički procesi podložniji pogreškama nego analitički. Takva bi očekivana raspodjela pogrešaka trebala potaknuti laboratorije da usmjere pozornost na prije- i poslije- analitičke procese kako bi poboljšali sigurnost bolesnika jer čini se da te faze sadrže najveći potencijal za poboljšanje kvalitete jednom kad se identificiraju i adekvatno primijene pouzdane strategije.

Potrebno je, međutim, provesti još neka razmatranja. Prvo, analitička kvaliteta još uvijek predstavlja veliki problem. Nedavno objavljeni podatci o analitičkoj kvaliteti u kliničkoj kemiji ukazali su na vrijednosti koje predstavljaju polazni kriterij za najmanju prihvatljivu kvalitetu. Slični ili čak lošiji podatci dostupni su i u drugim područjima laboratorijske medicine, posebice imunologiji, koagulaciji i molekularnoj biologiji. Drugo, iako se laboratorijski rad tradicijski klasificira kao predanalitički, analitički i poslijeanalitički, istraživanja početka i završetka sveukupnog procesa ispitivanja (engl. total testing process, TTP) otkrivaju i postojanje pred-prijeanalitičkih i post-poslijeanalitičkih faza. Prva faza započinje zahtjevom za pretragu, identificiranjem bolesnika i uzorka, uzimanjem krvi te prikupljanjem i rukovanjem uzorcima, a završava dostavom bioloških uzoraka u laboratorij. U post-poslijeanalitičkoj fazi, koja se odvija izvan kontrole laboratorija, kliničar prima, čita i tumači rezultate te donosi odluku na

temelju informacija iz laboratorija i drugih izvora. Temeljno je, stoga, pitanje “moraju li klinički laboratoriji preuzeti odgovornost za čitav proces testiranja, uključujući i primjerenost zahtjeva za pretragom i tumačenja?”. U Tehničkom izvješću ISO br. 22367, laboratorijska se pogreška definira kao “nedostatak koji se zbiva u bilo kojem dijelu laboratorijskog ciklusa, od traženja pretraga do izvještavanja o rezultatima te njihovom primjerenom tumačenju i reakciji na njih”. Takva široka definicija ima nekoliko prednosti te posebice potiče vrednovanje pogrešaka u laboratorijskoj medicini koje je usredotočeno na bolesnika. S obzirom na takvu koncepciju, treba provesti određena praktična razmatranja kako bi se smanjile pogreške u laboratorijskoj medicini i poboljšala sigurnost bolesnika.

Premda je glede laboratorijskih, osobito analitičkih pogrešaka postignuto značajno smanjenje tijekom posljednjih desetljeća, laboratorijske usluge nisu sigurne koliko bi trebale biti tako da ne bismo trebali biti zadovoljni. Tehnološka rješenja mogu laboratorijske usluge učiniti sigurnijima, no ne može ih se smatrati svemoćnim. Nova definicija “laboratorijskih pogrešaka” posebice potiče laboratorije da preuzmu odgovornost za čitav ciklus procesa testiranja, uključujući i primjerenost zahtjeva za pretragama te tumačenje. Međutim, takvu je odgovornost moguće ispuniti isključivo kroz usku suradnju s kliničarima i ostalim zdravstvenim stručnjacima. Međuklinička suradnja, koja je osmišljena da poboljša kvalitetu zahtjeva za pretragama, identifikacije bolesnika, prikupljanja i rukovanja uzorcima te distribucije podataka, jest ključna za postizanje najvećega mogućeg kvantitativnog smanjenja laboratorijskih pogrešaka.

Učinkovitija integracija automatizacije i upravljanja informacijama vrlo je važna da bi se osigurala što kvalitetnija kontrola laboratorijskih procesa. Automatizacija obuhvaća procjenu uzorka na početku procesa, optimirano usmjeravanje i raspoređivanje, točna i pouzdana mjerenja te smanjenje pogrešaka kojima su uzrok aktivni ljudski činitelji zbog, primjerice, opetovanih i manualnih postupaka. Rizik za pogreške u prijeanalitičkim procesima izvan laboratorija smanjen je, primjerice, uvođenjem sustava osmišljenih za upravljanje distribucijom epruveta, lijepljenje adekvatnih identifikacijskih naljepnica, izradu pomoćnih oznaka za prikupljanje uzoraka, te prijenos i prikupljanje epruveta u odgovarajući “bolesnički komplet”. Isto tako, uvođenje predanalitičkih radnih stanica je dramatično smanjilo broj pogrešaka u predanalitičkim postupcima koji se provode u laboratoriju. Upravljanje informacijama

uključuje pristup procesima, praćenju uzorka, dnevniku podataka i izvješćima, dokumentaciji o kontroli kvalitete i validaciji laboratorijskih nalaza. To bi sve, pak, trebalo rezultirati točnijim i pouzdanijim laboratorijskim informacijama. Stoga se od učinkovite kontrole procesa ostvarene kroz integraciju automatizacije i upravljanja informacijama očekuje da značajno poboljša sigurnost u ukupnom procesu laboratorijskog testiranja.

Čini se da se najveći mogući potencijal za poboljšanje kvalitete nalazi u pred-prijeanalitičkim koracima. Primjerena identifikacija bolesnika i uzorka ostaje središnje pitanje. Raširena uporaba manšeta s crtičnim kodom je obvezatna, no ne uklanja potrebu za točnom provjerom identiteta bolesnika, za učinkovitije strategije za prikupljanje uzoraka te za adekvatno osposobljenim osobljem. Nedostatak osposobljenog osoblja te preopterećene prostorijske za vađenje povećale su mogućnost pogrešaka koje je lako spriječiti. Dok su pokazatelji kvalitete za analitičku fazu laboratorijskih aktivnosti dobro definirani uz međunarodno priznatu specifikaciju, u vezi s vrstama i granicama prihvatljivosti za specifikacije poslijeanalitičke kvalitete ne postoji slaganje.

Laboratorijska medicina je visokodinamični sektor zdravstvene skrbi. Učestalost i vrste pogrešaka u laboratorijskoj medicini promijenile su se na bolje, što se očekuje i ubuduće zahvaljujući stalnom razvoju sve složenijih pretraga, velikim pomacima u tehnologiji uređaja, te težnji za potpuno integriranim laboratorijskim informacijskim sustavima. Iako je analitička kvaliteta još uvijek najveći problem, najveći utjecaj na cjelovito poboljšanje postigao bi se usredotočenjem na prije- i poslije- analitičke procese u kojima se zbiva najviše “grubih” pogrešaka, odnosno pogrešaka iz kojih nastaju nepovoljni događaji ili rizik nepovoljnih događaja za bolesnike. Čitav ciklus testiranja predstavlja jedinstveni okvir kojega treba iskoristiti za identificiranje i smanjivanje pogrešaka u laboratorijskoj medicini, s time da se nikada ne smije zaboraviti da laboratorijski stručnjaci moraju prednjačiti u osiguranju sigurnosti bolesnika kako unutar, tako i izvan zidova kliničkih laboratorija.<sup>(18)</sup>

## 5. ZAKLJUČAK

Iako je smatrano da se najviše pogrešaka u laboratorijskom radu odvija u analitičkom dijelu procesa, nakon dosadašnjih poboljšanja te faze zaključeno je da se najviše pogrešaka događa u predanalitičkoj fazi, a nešto manje u poslijeanalitičkoj fazi. Osnovni razlozi sadržani su činjenicama da predanalitička faza ima veći broj sudionika i dulje traje od ostalih faza laboratorijskog procesa (57% ukupnog vremena), uključuje manje automatiziranog načina rada, više cjelina s kojima proporcionalno raste i mogućnost pogreške. Poseban problem predstavlja još uvijek prisutna nedovoljna razvijena odgovornost za uzorak, odnosno manjak suradnje cjelokupnog medicinskog osoblja koje je uključeno u kliničku obradu pacijenta.

Edukacija osoblja uključenog u predanalitičku fazu laboratorijskog procesa ključna je za razumijevanje utjecaja različitih čimbenika na kvalitetu uzorka a time i na kvalitetu i točnost laboratorijskih nalaza.

Kako bi se izbjegle najčešće predanalitičke i analitičke pogreške u mikrobiološkoj dijagnostici, iz ovog rada možemo zaključiti da je za mikrobiološku obradu i procjenu uzoraka najvažnije:

- 1) osigurati točne podatke o pacijentu
- 2) vrijeme uzimanja uzorka / datum
- 3) podrijetlo uzorka
- 4) redoslijed uzimanja uzoraka i posebni zahtjevi
- 5) pravilno uzorkovanje
- 6) ispravna pohrana uzorka
- 7) pravilan transport uzorka
- 8) preliminarna dijagnoza / klinički podaci
- 9) pravilan odabir metode i ispravna obrada uzorka.

Dužnost i obveza laboratorija je stalna edukacija kliničkog osoblja, pacijenata i drugih korisnika za sve postupke koji doprinose kvaliteti uzorka.

## 6. LITERATURA

1. Salamunić, Ilza. Uvod u medicinsko laboratorijsku dijagnostiku. Split: 2012.
2. Ančić, Mirela. Predanalitički stručni standardi u medicinsko laboratorijskoj dijagnostici. Split: 2015.
3. Plebani M. Exploring the iceberg of errors in laboratory medicine. Clin Chem Acta. 2009; 404: 16-23.
4. Honović, Lorena. Zašto nam je važna i kako provoditi kvalitetnu prijeanalitičku fazu laboratorijske dijagnostike. Glas. pul. boln. 2013; godište 10.
5. Topić, Elizabeta; Primorac, Dragan; Janković, Stipan. Medicinskobiokemijska dijagnostika u kliničkoj praksi. Zagreb: Medicinska naklada, 2004; 3: 11-15.
6. Štraus, Božidar; Petrik, József. Štrausova medicinska biokemija / Čvorišćec, Dubravka ; Čepelak, Ivana (ur.). Zagreb : Medicinska naklada, 2009; 2: 8-18.
7. Tonkić, Marija. Klinička mikrobiologija. Split: 2015.
8. Presečki, Vladimir. Stomatološka mikrobiologija. Zagreb: Medicinska naklada, 2009.
9. IFCC/IUPAC. A Proposal for an IUPAC-IFCC Recommendation. Syntax and Semantic Rules for Quantities and Units in Clinical Laboratory Sciences 1993: stage 1, draft 4.
10. Kalenić S, Mlinarić-Missoni E. i sur. Medicinska bakteriologija i mikologija. Zagreb: Merkur A.B.D., 2001.
11. Laboratoriji kliničkog zavoda za mikrobiologiju i parazitologiju [Kbsplit]; preuzeto s:  
[http://www.kbsplit.hr/sites/default/files/Laboratoriji\\_Klinickog\\_zavoda\\_za\\_mikrobiologiju\\_i\\_parazitologiju.pdf](http://www.kbsplit.hr/sites/default/files/Laboratoriji_Klinickog_zavoda_za_mikrobiologiju_i_parazitologiju.pdf); pristupljeno: 1.05.2015.
12. Upute za uzimanje mikrobioloških uzoraka [Synlab]; preuzeto s:  
<http://www.synlab.hr/wp-content/uploads/2014/10/Uzimanje-uzoraka-mikrobiologija.pdf>; pristupljeno: 1.05.2015.
13. Haematology Working Group of the European Committee for External Quality Assessment Programmes in Laboratory Medicine (EQALM). Clin Chem Lab Med. 2004; 42(8): 922-6.



14. Ivetić, Vojislav; Kersnik, Janko. Dijagnostičke pretrage. Priručnik za primarnu zdravstvenu zaštitu. / Bergman-Marković, Biserka; Katić, Milica (ur.). Zagreb: Alfa, 2010.
15. Ančić, Mirela. Pravilno uzorkovanje urina. Split: 2015.
16. Babić-Erceg, Andrea. Uvod u mikrobiologiju [ZVU]; preuzeto s: <http://sharepoint.zvu.hr/katedre/319/Nastavni%20matrijali/LABORANTI/Izravna%20mikrobiolo%C5%A1ka%20dijagnostika%20.pdf>; pristupljeno: 21.04.2015.
17. Osnovni principi tumačenja rezultata mikrobioloških analiza [MFUB]; preuzeto s: <http://www.mfub.bg.ac.rs/dotAsset/47240.pdf>; pristupljeno: 21.04.2015.
18. Plebani, Mario. Laboratorijske pogreške: kako poboljšati prije- i posljeanalitičke faze? Biochemia Medica. 2007; 17(1): 5-9.

## **7. SAŽETAK**

### **Uvod**

Kvaliteta i sigurnost laboratorijske dijagnostike je vrlo važna i značajno utječe na promociju ukupne zdravstvene skrbi. Klasifikacija laboratorijske dijagnostike na predanalitičku, analitičku i postanalitičku fazu olakšava praćenje cjelokupnog laboratorijskog procesa i nastajanja mogućih pogrešaka. Puno je dokaza koji ukazuju da je predanalitička faza najkritičniji dio procesa. Neki od problema koji se javljaju u ovoj fazi uključuju nesukladne uzorke zbog pogrešne identifikacije, količine (nedovoljno volumena uzorka za analizu) ili kvalitete (hemolizirani, zgrušani, kontaminirani uzorci) uzoraka. Standardizacija cjelokupnog procesa i pravovremeno otkrivanje pogrešaka dovodi do veće kvalitete laboratorijske dijagnostike. U mikrobiološkoj dijagnostici treba poznavati načela i pojedinosti uzimanja i slanja uzorka u mikrobiološki laboratorij jer je osobito važno u uzorku očuvati što veći broj prisutnih infektivnih čestica.

### **Cilj**

Cilj ovog rada je ukazati na najčešće potencijalne pogreške u predanalitičkoj i analitičkoj fazi rada u mikrobiološkom laboratoriju u svrhu njihovog izbjegavanja.

### **Izvori podataka i metode**

U svakom laboratoriju je najvažnije poznavati načela dobre laboratorijske prakse, tj. pridržavati se standardnih mjera zaštite u radu. Najvažniji i najjednostavniji način sprječavanja i kontrole infekcija je higijena ruku. Kako su zamjene uzoraka najčešći uzroci grešaka, važno je pravilno i potpuno ispuniti mikrobiološku uputnicu jer ona katkad predstavlja jedinu komunikaciju između laboratorija i klinike. Za uzorke je najbitnije da se dobro odaberu, pravilno uzmu i brzo transportiraju do mikrobiološkog laboratorija. Da bi bili valjani, uzorci moraju predstavljati sam infektivni proces. U mikrobiologiji se obrađuju gotovi svi klinički uzorci, primarno sterilni i nesterilni, na tražene infekcije (bakterijske, virusne i gljivične) prema odgovarajućim pravilima uzorkovanja, čuvanja i transporta. Bilo kakva odstupanja dovode do nezanemarivih predanalitičkih grešaka. Za analitički dio procesa je važna pravilna obrada uzoraka prema odgovarajućim metodama, direktnim i indirektnim.

## **Zaključak**

Najveći broj pogrešaka u laboratorijskom radu se odvija u predanalitičkoj fazi. Cilj svakog laboratorija je poboljšanje kvalitete i točnosti nalaza, a to se može postići samo uz kontinuiranu edukaciju osoblja. U mikrobiološkoj dijagnostici treba poraditi najviše na kvaliteti uzoraka što će utjecati na smanjenje i predanalitičkih i analitičkih grešaka.

## **8. SUMMARY**

### **Introduction**

Quality and safety of laboratory diagnostics have very important and significant affect on the promotion of a overall health care. Classification of laboratory diagnostics to the preanalytical, analytical and postanalytical phase, facilitates the monitoring of the entire laboratory process, as well as the emergence of possible errors. A lot of evidence are suggesting that the preanalytical phase is the most critical part of this given process. Some problems which occur in the given phase include non-compliant samples due to the misidentification, quantity (insufficient sample volume for analysis) or quality (hemolysed, clotted, contaminated samples) of the samples. Standardization of the entire process and the timely detection of errors leads to higher quality of laboratory diagnostics. In the microbiological diagnostics, one needs to know the principles and details of taking and sending samples to the microbiology laboratory, since it is particularly important to preserve in sample as many of those present infectious particles.

### **Objective**

The objective of this paper is to present and point out most common errors occuring in the preanalytical and analytical phase of work in the microbiology lab in order to avoid them.

### **Sources of information and methods**

Each lab requires a detailed knowledge of principles, which good laboratory practice has; ie. to comply with the standard criteria of protection at work. The most important and the simplest way to prevent and control infections is a hand hygiene. As the replacement samples for most common causes of errors, it is important to correctly and completely fill microbiological referral since it is sometimes the only valuable communication between the laboratory and the clinic. For samples, it is most important to choose a good, properly taken and quickly transported to the microbiology lab. To be valid, samples must represent an infectious process. Microbiology processes almost all clinical specimens, primarily sterile and non-sterile, for the requested infections (bacterial, viral and fungal) under the relevant rules of sampling, storage and transport;

as well as the any deviations leading to a non insignificant preanalytical errors. In the analytical part of the process it is important to correct processing of the samples to the appropriate methods, direct and indirect.

### **Conclusion**

Most errors in laboratory work are carried out in preanalytical stage. The aim of all laboratories is to improve the general quality and accuracy of the findings, and this can be achieved only through a detailed and continuous staff training. In microbiological diagnostics, one has to work on the quality of samples which will affect the reduction of the preanalytical and analytical errors.

## 9. ŽIVOTOPIS

### OPĆI PODACI:

**Ime i prezime:** Elena Bartulica

**Datum rođenja:** 30. travanj 1993. godine

**Adresa stanovanja:** Put Firula 41, 21 000 Split / Dalmatinska 23, 80 101 Livno, BiH

**Telefon:** 0038734 611 042

**Mobitel:** 097 6980 085

**E- mail:** [bartulicaelena@gmail.com](mailto:bartulicaelena@gmail.com)

### OBRAZOVANJE:

2000. - 2008. Osnovna škola „ Ivan Goran Kovačić“, Livno

2008. - 2012. Opća gimnazija Livno, Livno

2012. - 2015. Sveučilišni odjel zdravstvenih studija u Splitu- Medicinsko laboratorijska dijagnostika

**JEZICI:** engleski jezik, Goethe institut certifikat za osnovnu razinu njemačkog jezika

**RAČUNALNE VJŠTINE:** vrlo dobro poznavanje Microsoft Office paketa, aktivno služenje internetom

**ORGANIZACIJSKE VJEŠTINE:** natjecanje iz njemačkog jezika 2010., 2011.

**OSTALI INTERESI:** član raznih sportskih, kulturno- umjetničkih i vjerskih (Frama) organizacija