# Uvod

 Infektivne bolesti dišnog sustava dijele se, više zbog anatomskih odnosa, na infekcije gornjega i donjega dišnog sustava. Ovdje, zbog anatomske komunikacije, možemo pribrojiti i šupljine srednjeg uha i sinusa.

 Bolesti dišnog sustava uzrokuje više od 500 različitih vrsta mikroorganizama.To su najčešće virusi (u oko 90 % slučajeva). Postoje kliničke slike kod kojih je nemoguće razdvojiti virusnu od bakterijske etiologije i tu je mikrobiološka dijagnostika ne samo opravdana, nego i nužna, prije uvođenja antibiotskog liječenja.

 Uzorci se, za dijagnostiku infekcija dišnog sustava, uzimaju :

* što prije (ako može prvog dana bolesti),
* prije početka antimikrobnog liječenja (ili najranije jedan do dva tjedna nakon prekida liječenja)
* ako ne uspije prijašnje liječenje.

Uzorci za dijagnostiku infekcija dišnog sustava mogu biti :

* uzorci iz gornjeg dišnog sustava (najčešći) :
* obrisak ždrijela
* obrisak nazofarinksa
* obrisak nosa
* aspirat ili punktat sinusa
* bris uha ( zvukovoda )
* tekućina dobivena timpanocentezom ili spontanom rupturom nakon

 perforacije bubnjića

* obrisak usne šupljine, jezika
* obrisak oka
* uzorci iz donjeg dišnog sustava
* neinvazivni uzorak : sputum
* uzorci dobiveni invazivnim metodama:

 endotrahealni aspirat

 BAL ( bronhoalveolarni ispirak )

 aspiracija četkicom

 punktat pluća

 intraoperativni uzorak ( bioptat )

Uzorci iz gornjeg i donjeg dišnog sustava obrađuju se u Laboratoriju za respiratorne i ostale bakterijske bolesti i intrahospitalne infekcije, telefon 300-852.

# Uzorci iz gornjeg dišnog sustava

**Uzorci iz gornjeg dišnog sustava često su kontaminirani fiziološkom florom gornjeg dišnog sustava, te isti mikroorganizmi prisutni u ždrijelu ili nosu tijekom bolesti, mogu biti prisutni kao normalna flora i kao kliconoštvo u zdravih ljudi.**

**Iz navedenih razloga ovi uzorci u najvećem broju slučajeva ne pružaju dovoljno informacija o etiološkoj ulozi izoliranih bakterijskih vrsta pri infekciji donjeg dišnog sustava. Stoga se kod kliničkih slika akutne upale srednjeg uha ili sinusitisa ne bi trebali rutinski uzimati.**

**Za dijagnozu upale srednjeg uha ili sinusitisa potrebni su invazivnije dobiveni uzorci ( punktat sinusa, tekućina dobivena timpanocentezom ), a koje bi trebali uzimati liječnici specijalisti.**

**Neinvazivni su uzorci od koristi za:**

**- dijagnostiku specifičnih patogena ( Streptococcus pyogenes, Bordetella pertusis, respiratorni virusi ) koji u simptomatskih pacijenata uzrokuju bolest sa velikom vjerojatnošću )**

**- za detekciju kliconoštva nekih uzročnika ( npr. stafilokoka u obrisku nosnog vestibuluma )**

## Obrisak ždrijela

* najčešći uzročnik bakterijskog tonzilofaringitisa je beta-hemolitički streptokok grupe A (BHS-A) – Streptococcus pyogenes.
* Ostale uzočnike nije potrebno rutinski obrađivati, osim NA ZAHTJEV KLINIČARA (grupa C i G streptokoka, Arcanobacterium haemolyticum, Neisseria gonorrhoea, Corynebacterium diphtheriae,Corynebacterium ulcerans), a prema epidemiološkoj situaciji.
* Kliconoštvo na multiplorezistentne bakterije u sklopu aktivnog probira ili nadzora nad infekcijama povezanim sa zdravstvenom skrbi određuje se prema dogovoru i u skladu sa prihvaćenim preporukama za populacije pacijenata definirane istim tim preporukama.
* Vincentova angina ili akutni nekrotizirajući ulcerativni gingivitis je stanje karakterizirano faringitisom i teškom upalom zubnog mesa, a uzrokovana je anaerobnim fuziformnim štapićima (Fusobacterium spp.) i spirohetom Borrelia vincenti. Dijagnoza se postavlja na osnovu kliničke slike i mikroskopijom preparata obriska ždrijela (ciljane lezije) obojanog po Gramu.
* Lemierreova bolest uzrokovana je s Fusobacterium necrophorum, ili rijeđe drugim vrstama roda Fusobacterium. Klinički uzorak izbora za postavljanje dijagnoze je hemokultura.

UZIMANJE :

- Pripremiti sterilni pamučni bris s epruvetom i špatulu.

* Pacijent sjedne prema izvoru svjetlosti, proguta eventualno nakupljenu slinu, zabaci glavu i duboko diše i otvori usta.
* Špatulom se lagano pritisne baza jezika, a pacijent izgovara"aaaaaa".Čvrsto se obrišu tonzile, nepčani lukovi i stražnja stijenka orofarinksa pazeći da se ne dotakne uvula, jezik, niti bukalna sluznica zbog moguće kontaminacije fiziološkom florom usne šupljine
* Uzorak se po dopremi u laboratorij obrađuje u roku od 30 minuta do dva sata od uzimanja

TRANSPORT I POHRANA UZORKA

* Uzorke je potrebno transportirati što je prije moguće na jedan od slijedećih načina:
1. Bez transportnog medija na sobnoj temperaturi (ST) do 2 sata od uzimanja uzorka
2. U transportnom mediju ( Stuart, Amies ) do 24 sata na sobnoj temperaturi (ST) od uzimanja uzorka
3. Ako nema transportnog medija, prihvatljiva je opcija pohrana uzorka na +4°C do 24 sata od uzimanja uzorka ( manje povoljno )

NALAZ :

Pacijent se naručuje za 4 dana iako 70% nalaza bude gotovo za dva dana. Liječnik koji je uputio pacijenta već nakon 24 sata putem telefona 300 - 852 može dobiti informaciju o tijeku pretrage i preliminarnom nalazu.

 

 špatula

 Uzimanje brisa ždrijela

## Obrisak nazofarinksa

Bris nazofarniksaje uzorak koji se najčešće koristi u epidemiološke svrhe (kliconoštvo) a izoliraju se i mogući patogeni koji su najčešće kolonizatori u gornjem dišnom sustavu – uvjetno patogeni mikroorganizmi.

Indikacije za uzimanje obriska nazofarinksa su:

* Pertusis
* Difterija
* Streptokokni faringitis u male djece ( BHS-A )
* Meningokokno kliconoštvo

BRIS NAZOFARINKSA NE BI SE TREBAO RUTINSKI OBRAĐIVATI KOD SUMNJE NA AKUTNU UPALU SREDNJEG UHA, SINUSITISA ILI INFEKCIJA DONJEG DIJELA DIŠNOG SUSTAVA.

UZIMANJE:

* Pripremiti sterilni bris (dugi, tanki, elastični) s epruvetom.
* Uroniti bris u sterilnu fiziološku otopinu.
* Glavu držati ravno i lagano podignuti vrh nosa kako bi smo izravnali nosni hodnik
* Brisom se ulazi između nosnica (ne dirajući kožu), prateći nosni hodnik do stražnje stijenke nazofarinksa, te se tada lagano rotirajući štapić kroz najmanje 5 sekundi apsorbira sekret..
* Postupak se ponavlja i u drugoj nosnici.
* Bris se nasijava za 30 min do najviše 2 sata od uzimanjaq

TRANSPORT I POHRANA UZORKA

* U slučaju odgođenog transporta uzorka u mikrobiološki laboratorij uzorak se pohranjuje na istovjetan način kao i obrisak ždrijela

NALAZ :

Pacijent se naručuje za 4 dana, iako 70% nalaza bude gotovo za dva dana.

Liječnik koji je uputio pacijenta već nakon 24 sata putem telefona 300 - 852 može dobiti informaciju o tijeku pretrage i preliminarnom nalazu.

 

 Uzimanje brisa nazofarinksa

## Obrisak nosa

 Većina bakterija na koži i sluznici nosa predstavlja kolonizaciju.

Obrisak nosa se uzima u slučaju promjena na sluznici vestibuluma nosa, pri čemu se zapravo radi o infekcijama kože i sluznica pa prema tomu i očekivanim patogenima istih. Kolonizacija nosa bakterijom Staphylococcus aureus povećava rizik stafilokoknih infekcija, posebice infekcija postoperativnih rana ili infekcija vezanih uz dijalizni kateter. Kolonizacija je povezana i sa češćim infekcijama kože kao i sa infekcijama povezanim sa zdravstvenom skrbi.

Bris nosa se primarno uzima za:

* Detekciju kliconoštva S.aureus prije kardiokirurškog zahvata i kod tvrdokornih piodermija
* Za detekciju kliconoštva MRSA u sklopu aktivnog probira na rizičnim odjelima ili u slučaju praćenja već postojeće epidemije ( tzv. nadzorne kulture )

 Nadzorne kulture se rade pacijentima ili medicinskom osoblju u bolnici pri čemu

 se na zahtjevu za pretragom mora naznačiti – MRSA screening

* Kod vrlo rijetkih infekcija rinosklerome koje uzrokuje Klebsiella rhinoscleromatis
* Kod vrlo rijetkih infekcija ozene koje uzrokuje Klebsiella ozaene

OBRISAK NOSA SE NE UZIMA KOD SUMNJE NA AKUTNU UPALU SREDNJEG UHA ILI KOD SINUSITISA.

Na uputnici je potrebno naznačiti koji se uzročnik traži. Ukoliko je taj podatak na zahtjevu za pretragom izostavljen potrebno je kontaktirati ordinarijusa i razjasniti svrhu uzimanja uzorka te u odsutnosti indikacije a u dogovoru sa ordinarijusom odbaciti uzorak.

UZIMANJE

- Obrisak nosa se uzima sterilnim, pamučnim i debljim, krutim štapićem – kakvim se uzima i obrisak ždrijela.

- Uroniti bris u sterilnu fiziološku otopinu.

- Glavu držati ravno

- Ući brisom u vestibulum ( prvih 1 cm ) i pažljivo obrisati sluznicu rotirajućim

 pokretima kako bi se upio sekret iz prednjeg nosnog hodnika

- Ponoviti postupak u drugoj nosnici istim brisom

- Bris se donosi odmah u laboratorij, gdje se odmah obrađuje.

TRANSPORT I POHRANA UZORAKA

Bris je potrebno transportirati u mikrobiološki laboratorij što je prije moguće na jedan od slijedećih načina:

* Bez transportnog medija na sobnoj temperaturi (ST) do 2 sata od uzimanja uzorka
* U transportnom mediju (Stuart, Amies) na sobnoj temperaturi do 24 sata od uzimanja uzorka
* Ako nema transportnog medija, manje povoljna ali prihvatljiva opcija je pohrana uzorka na +4°C do 24 sata od uzimanja uzorka

NALAZ

Nalaz je gotov za 4 dana. Medicinsko osoblje može dobiti informacije o preliminarnom nalazu ili tijeku pretrage na telefon 300 852.

  Uzimanje brisa nosa

## Uzorak iz sinusa

Etiologija sinusitisa ovisi o patogenezi i može se podijeliti na slijedeće kliničke entitete:

* Akutni sinusitis:
1. Izvanbolnički – uzrokovan virusima, bakterijama, gljivama (Streptococcus pneumoniae, Haemophilus influenzae, streptokoki „anginosus“ grupe – Streptococcus anginosus, Streptococcus constellatus i Streptococcus intermedius, ostali α-hemolitički streptokoki, beta-hemolitički streptokoki grupe A, S.aureus, Moraxella catarhalis ( češća u dječjoj dobi ) te anaerobi ( rijetko u djece )
2. Bolnički – nakon traume glave ili prolongirane nazotrahealne/nazogastrične intubacije (S.aureus, P.aeruginosa, enterobakterije, polimikrobne infekcije); u imunokompromitiranih pacijenata (P.aeruginosa, plijesni iz roda Aspergillus, Candida spp., Sporothrix schenkii i Scedosporium apiospermium, Cryptococcus neoformans
3. Alergijski – alergijskom sinusitisu često prethodi alergijski rinitis
* Kronični sinusitis:

Postoperativna komplikacija, urođeni sindrom imunodeficijencije , nosni polipi – uzročnici su slični uzročnicima akutnog sinusitisa, uz česće anaerobne vrste

OBRISAK NAZOFARINKSA NIJE ADEKVATAN UZORAK ZA DIJAGNOSTIKU SINUSITISA!

- Ciljani je uzorak aspirat, punktat ili ispirak sinusa ( liječnik specijalist ORL ).

- Minimalna je količina uzorka 1 ml, a veća će količina purulentnog materijala održati eventualno prisutne anaerobne vrste dulje vijabilnima.

- uzorke je potrebno transportirati u mikrobiološki laboratorij što je prije moguće

- u slučaju odgođenog transporta uzorci se mogu pohraniti na sobnoj temperaturi ili na +4°C do 24 sata od uzimanja uzorka a svakako u podlozi za anaerobe

NALAZ :

Pacijent se naručuje za 4 dana. Liječnik koji je uputio pacijenta, može dobiti informaciju o tijeku pretrage i preliminarnom nalazu pozivom na telefon 300-852.

## Uzorci uha

* + 1. **Uzorci srednjeg uha**

 Akutne infekcije srednjeg uha uzrokovane su najčešće respiratornim virusima i nekim bakterijama : Streptococcus pneumoniae, Moraxella catarrhalis te Haemophilus influenzae.

Kroničnu upalu srednjeg uha najčešće uzrokuju S.aureus/MRSA, Pseudomonas spp. i anaerobi.

BRIS NAZOFARINKSA NIJE ADEKVATAN UZORAK ZA DIJAGNOSTIKU UPALE SREDNJEG UHA!

Uzorak izbora kod upale srednjeg uha je sadržaj iz srednjeg uha kojeg je moguće dobiti ili timpanocentezom ( liječnik specijalist ORL ) ili obriskom nakon spontane perforacije bubnjić kroz vanjski zvukovod. Ako se uzorak uzima na ovaj način vanjski zvukovod se treba očistiti antiseptikom.

Postupak:

* Obrisak je moguć samo kod rupture bubnjića
* Ušku lagano potegnuti unazad i izravnati vanjski slušni kanal
* Dekontaminirati područje vanjskog slušnog kanala brisom namočenim u sterilnu fiziološku otopinu
* Aspirirati iglom i brizgaljkom sadržaj iz srednjeg uha
* Ukoliko je došlo do perforacije bubnjića i tekućina spontano curi potrebno je pokupiti je sterilnim brisom
* Uzorak se obrađuje za 30 minuta do 2 sata pohranjen na sobnoj temperaturi

TRANSPORT I POHRANA

Bris transportirati na jedan od slijedećih načina:

* Bez transportnog medija na sobnoj temperaturi (ST) do 2 sata od uzimanja uzorka
* U transportnom mediju ( Stuart, Amies ) na sobnoj temperaturi do 24 sata od uzimanja uzorka
* Ako nema transportnog medija, manje povoljna ali prihvatljiva opcija je uzorak pohraniti i transportirati na +4°C do 24 sata od uzimanja uzorka
	+ 1. **Bris vanjskog zvukovoda**

Ovom pretragom utvrđuje se uzročnik infekcije vanjskog zvukovoda, koja sliči bilo kojoj infekcij kože i mekih tkiva. Pretraga nema značenja za dokaz etiologije upale srednjeg uha osim kod perforacije bubnjića.

Uzročnici uplae zvukovoda uključuju slijedeće mikroorganizme:

- akutna upala: Pseudomonas aeruginosa, S.aureus, BHS-A, Vibrio alginolyticus

- kronična upala: kandida, plijesni, mikobakterije, nokardija

Najčešći su klinički entiteti:

* „uho plivača“ – uzročnici P.aeruginosa, S.aureus, anaerobi u polimikrobnim infekcijama, stanje koje je često u toplim i vlažnim razdobljima godine
* Maligni otitis externa (pod povećanim su rizikom dijabetičari i imunokompromitirani ) – uzročnik P.aeuruginosa.

UZIMANJE :

Prije uzimanja uzorka potrebno je prvim brisom navlaženim u fiziološku otopinu odstraniti eventualne kruste – dekontaminirati područje.

Obrisak se uzima sterilnim pamučnim brisom koji se namoči u sterilnu fiziološku otopinu.

Pacijenta se uhvati za ušnu resicu i povuče tako da se dobije što ravniji ulaz u vanjski zvukovod. Bris se pažljivo rotira. Ukoliko se sumnja na infekciju uzrokovanu kandidom tada su uzorak izbora strugotine kože.

 Nakon uzimanja uzorak se mora obraditi što prije, za 30 min do 2 sata

TRANSPORT I POHRANA

Bris se transportira na jedan od slijedećih načina:

* Bez transportnog medija na sobnoj temperaturi (ST) do 2 sata od uzimanja uzorka
* U transportnom mediju (Stuart, Amies) na sobnoj temperaturi do 24 sata od uzimanj uzorka
* Ukoliko nema trasnportnog medija, manje povoljna ali prihvatljiva opcija je uzorak pohraniti na +4°C do 24 sata od uzimanja uzorka

NALAZ :

Za nalaz uzoraka kod upale srednjeg uha i brisa vanjskog zvukovoda, pacijent se naručuje za 4 dana. Liječnik koji je uputio pacijenta može dobiti informacije o tijeku pretrage i preliminarnom nalazu pozivom na telefon 300-852.

## Obrisak usne šupljine

Najčešće infekcije u usnoj šupljini, kod kojih je indicirana mikrobiološka pretraga jesu periodontalna bolest te ulcerativne lezije sluznice usne šupljine, osobito kod imunokompromitiranih bolesnika.

Kandidijaza je najčešći tip infekcije usne šupljine. Najčešći je uzročnik Candida albicans, te povremeno i druge non-albicans vrste (Candida krusei i Candida glabrata koje češće koloniziraju sluznicu usne šupljine ).

Ukoliko se u uzorku želi potvrditi prisustvo gljivica, na uputnici treba napisati da se želi mikološka pretraga.

UZIMANJE :

Za uzimanje ovog uzorka potreban je sterilni pamučni bris s epruvetom.

1. Pažljivo očistiti promjene od sline, naslaga i plaka.
2. Brisom se čvrsto obriše promjenjeni dio sluznice. Pritom treba paziti da se

 ne dotakne okolna nepromjenjena sluznica. Iz periodontalnih džepova

 bolje je uzeti uzorak struganjem.

TRANSPORT I POHRANA UZORKA

* Bez transportnog medija na sobnoj temperaturi do 2 sata od uzimanja uzorka
* U transportnom mediju ( Stuart ili Amies ) na sobnoj temperaturi do 24 sata od uzimanja uzorka
* Ukoliko nema transportnog medija, manje povoljna ali prihvatljiva je opcija pohrana uzorka na +4°C do 24 sata od uzimanja uzorka

NALAZ :

Nalaz kulture na bakterije je gotov za 4 dana. Od patogenih uzročnika se izrađuje antibiogram.

Liječnik koji je uputio pacijenta može dobiti informacije o tijeku pretrage i naraslim bakterijama putem telefona 300-852.

## Obrisak oka

Infekcije oka i pridruženih struktura podrazumijevaju slijedeće:

1. Konjuktivitis – upala spojnice oka koja može biti akutna ili kronična, a najčešće je uzrokovana virusima: od bakterijskih su uzročnika najčešći S.aureus, Streptococcus pneumoniae, Haemophilus influenzae, Moraxella catarrhalis, Neisseria gonorrhoeae, Chlamydia trachomatis.
2. Blefaritis – upala vjeđa koju najčešće uzrokuju S.aureus.
3. Keratitis – upala rožnice kao vrlo ozbiljno stanje koje može uzrokovati perforaciju i u konačnici sljepoću; predisponirajući su čimbenici prijašnja bolest oka, nošenje kontaktnih leća, uporaba topičkih kortikosteroida, a uzrokuje je veliki broj mogućih uzročnika
4. Endoftalmitis – upala prednjeg i stražnjeg segmenta oka, staklastog tijela i očnih komora; može biti egzogeni a najčešće nastaje nakon trauma ili ijatrogeno nakon operacija, te endogeni ( metastatski ) koji nastaje hematogenim rasapom mikroorganizma; najčešći su uzročnici egzogenog endoftalmitisa u više od 90% slučajeva S.aureus, S.epidermidis, te streptokoki. Među gram negativnim bakterijama najčešći su uzročnici Pseudomonas aeruginosa, H.influenzae i Proteus spp. Endogeni je endoftalmitis najčešće gljivična infekcija, u više od 50% slučajeva uzrokovana s Candidom albicans i Aspergillus spp.
5. Orbitalni celulitis – nastaje nakon traume, operativnog zahvata ili nakon infekcije paranazalnih sinusa, a koji može uzrokovati slijepoću, septičku trombozu kavernoznog sinusa te intrakranijske infekcije; najčešći su uzročnici S.aureus, streptokoki i anaerobi

Bris oka uzet iz unutrašnjeg ruba očnog ugla dobar je uzorak za kulturu kod bakterijske upale konjuktive. Najčešći bakterijski patogeni (koji mogu biti dio normalne flore nazofarinksa) :

* Haemophilus influenzae
* Streptococcus pneumoniae
* Moraxella catarrhalis
* Staphylococcus aureus
* enterobakterije (mogu biti i kontaminanti)

UZIMANJE :
Uzimaju se odvojeni obrisci oba oka, bez obzira u kojemu je upalni proces, zbog usporedbe.

1. Konjuktivitis – sterilan pamučni bris se prije uzimanja namoči u sterilnu fiziološku otopinu
* - prvim se brisom pokupi sluz i bris se odbacuje
* - drugim se brisom obriše konjuktiva pazeći da se ne dotakne
* kožni dio vjeđe

- Uzorak je najbolje uzeti u predjelu donjeg kantusa.

1. Blefaritis – bris uzeti sterilnim pamučnim brisom navlaženim u sterilnu fiziološku otopinu prelazeći preko vjeđe
2. Keratitis – nakapati topički anestetik te potom sastrugati posebnom špatulom rub ulceracije, uzeti 3-5 strugotina sa svakog oka ( liječnik specijalist oftalmolog ) i transportirati u laboratoriju u transportnom mediju za anaerobe
3. Endoftalmitis – uzeti aspirat vitrozne tekućine ili učiniti paracentezu prednje očne sobice, te paralelno uzeti i obrisak konjuktive zbog procjene značajnosti uzročnika ( liječnik specijalist oftalmolog )
4. Dakroadenitis – brisom pokupiti purulentni iscjedak
5. Dakrocistitis – pritiskom na suznu vrećicu pokupiti eksudat aspiracijom, te paralelno uzeti i obrisak konjuktive radi procjene značajnosti uzročnika

TRANSPORT I POHRANA UZORKA

* Bez transportnog medija na sobnoj temperaturi (ST) do 2 sata od uzimanja uzorka
* U transportnom mediju (Stuart ili Amies) do 24 sata od uzimanja uzorka
* Ukoliko nema transportnog medija, manje povoljna ali prihvatljiva opcija je pohrana uzorka na +4°C do 24 sata od uzimanja uzorka

NALAZ

Nalaz kulture gotov je za 2-4 dana.

Liječnik koji je uputio pacijenta može dobiti informacije o tijeku pretrage putem telefona 300-852.

# Uzorci iz donjeg dišnog sustava

Infekcije donjeg dijela dišnog sustava obuhvaćaju pneumoniju (upala plućnog parenhima), bronhitis (upala bronhijalnog stabla), bronhiolitis (upala malih dišnih puteva), apsces pluća (purulentna kolekcija u plućnom parenhimu), empijem (purulentna kolekcija u pleuralnom prostoru), te cističnu fibrozu.

Veliku važnost u dijagnostici infekcija donjeg dijela dišnog sustava imaju pravilno prikupljeni uzorci koji moraju biti što manje kontaminirani fiziološkom florom porijekla gornjeg dišnog sustava. U uzorcima iz donjeg dijela dišnog sustava često je prisutan veći broj različitih bakterijskih vrsta, te je ponekad teško razlikovati kolonizaciju od prave infekcije.

Veliku pomoć pri određivanju kvalitete primarno nesterilnih uzoraka kao što su iskašljaj ili endotrahealni aspirat ima mikroskopija preparata obojanog po Gramu, a prema kojoj moraju biti zadovoljeni određeni kriteriji:

* Opće prihvaćeni je kriterij je < 10 ES (epitelnih stanica) i > 25 PMN (polimorfonuklearnih leukocita) u jednom vidnom polju malog povećanja (10x10), procijenjeno na 10 vidnih polja, ili omjer PMN:ES > 2:1, te mikroorganizmi viđeni fagocitirani u PMN
* Prednost korištenja omjera PMN/ES je mogućnost kompenzacije neravnomjerne distribucije stanica prilikom izrade preparata, tj. debljine preparata
* Kod imunosuprimiranih osoba treba uzeti u obzir moguću neutropeniju koja će prema tome utjecati na broj PMN u uzorku
* Veliki broj epitelnih stanica u pravilu znači kontaminaciju uzorka sekretom iz orofarinksa
* Minimalni kriterij za neadekvatnost uzorka je broj ES > 10

Najčešći su uzročnici infekcija donjeg dišnog sustava:

* Izvanbolnička pneumonija – S.pneumoniae, H.influenzae, M.catarrhalis, Mycoplasma pneumoniae, Chlamydia pneumoniae, Chlamydia psitacci, Coxiella burnetii, Legionella pneumophila
* Bolnička pneumonija – P.aeruginosa, Acinetobacter baumanii, enterobakterije, MRSA, gljivične infekcije (Aspergillus spp.) – Candida spp. vrlo rijetko uzrokuju infekciju donjeg dijela dišnog sustava, eventualno po hematogenom rasapu, te su često kolonizatori sluznice dišnog sustava

VRSTE UZORAKA

Uzorci iz donjeg dijela dišnog sustava uglavnom se prikupljaju invazivnim metodama. Jedina je neinvazivna metoda uzorkovanja iskašljaj (ekspektorirani sputum), koji je ujedno i najčešći uzorak iz donjeg dijela dišnog sustava koji se šalje u mikrobiološki laboratorij.

## Sputum

Sputum je neinvazivni uzorak koji ima i najmanju osjetljivost (oko 60%), stoga se preporuča materijal uzorkovati triput (tri dana zaredom), naravno, prije antibiotskog liječenja, a kako bi se povećala osjetljivost metode. Napomena: Iskašljaj se teško dobiva na ispravan način, bez miješanja sa slinom.

UZIMANJE :

* Ekspektorirani iskašljaj

Zbog nakupljanja sekreta tijekom noći najbolje je uzeti prvi jutarnji iskašljaj, neposredno nakon buđenja

Zube i usnu šupljinu isprati prokuhanom običnom vodom ili sterilnom fiziološkom otopinom (ne rabiti sredstva koja djeluju baktericidno npr. pastu za zube).

Pacijent treba nekoliko puta duboko udahnuti, a zatim iz dubine treba iskašljati i iskašljaj izravno izbaciti u sterilnu posudicu sa poklopcem na navoj

Potrebna količina uzorka je ≥ 2 ml ( minimalno 1 ml )

Ako je iskašljavanje otežano, preporuča se uzeti tople napitke, inhalirati se ili u sjedećem položaju staviti glavu među koljena (tako se lakše iskašljava).

* Inducirani iskašljaj

Ukoliko je nemoguće dobiti iskašljaj onda uzima inducirani sputum. Pacijent nakon ispiranja usta vodom inhalira oko 25 ml zagrijane fiziološke otopine ili hipertonične otopine soli (3-15%) kroz 10-20 minuta. Daljnji je postupak uzorkovanja isti kao kod iskašljaja.

Sputum treba transportirati u laboratorij do 2 sata nakon uzimanja.

U slučaju odgođenog transporta uzorak se pohranjuje na +4°C do 24 sata od uzimanja.

NALAZ :

Nalaz sputuma se sastoji od mikroskopskog nalaza i nalaza kulture. Na osnovu mikroskopskog nalaza (odnosa PMN- a i epitelnih stanica) može se vidjeti je li uzorak dobiven na ispravan način i kvalitetan za interpretaciju nalaza.

Ukoliko se u kulturi izoliraju patogene bakterije od njih se izrađuje antibiogram.

Nalaz sputuma na kulturu i antibiogram izdaje se nakon 4 dana. Liječnik koji je uputio pacijenta može dobiti informacije o tijeku pretrage na telefon 300-852.

## Uzorci donjeg dišnog sustava dobiveni invazivnim metodama

 endotrahealni aspirat (ETA)

 aspirat bronha(BAL)

 aspiracija četkicom (PSB)

 punktat pluća

 intraoperativni uzorak

Ovi uzorci uzimaju se samo na bolničkim odjelima i dostavljaju se što prije u mikrobiološki laboratorij. Iako su ove vrste uzoraka dobivene invazivnim metodama moguća je kontaminacija florom orofarinksa.

Transport i pohrana uzoraka

1. Primarno nesterilni uzorci iz donjeg dišnog sustava ( iskašljaj, endotrahealni aspirat, BAL )
* Uzorke je potrebno transportirati i obraditi što je prije moguće
* Uzorci se dostavljaju u sterilnoj posudi sa poklopcem na navoj najviše do 2 sata od uzimanja na sobnoj temperaturi ili najviše do 24 sata od uzimanja na +4°C
1. Primarno sterilni uzorci iz donjeg dišnog sustava
* Uzorke treba dostaviti u mikrobiološki laboratorij što je prije moguće u sterilnoj posudi sa poklopcem na navoj, a po mogućnosti u anaerobnom transportnom mediju na sobnoj temperaturi najdulje do 24 sata od uzimanja
* Manje količine bioptata potrebno je staviti u nekoliko kapi sterilne fiziološke otopine da se održi vlažnost tkiva
* Pri sumnji na anaerobnu infekciju, a u slučaju odgođenog transporta, koristiti anaerobni transportni medij

NALAZ

Rezultati ispitivanja ovise o vrsti uzorka kao i o vrsti izoliranih mikroorganizama. Vrijeme izvještavanja je 2-6 dana. Informacije o tijeku pretrage kao i o preliminarnim rezultatima mogu se dobiti na telefon 300-852.

**3.2.1 Endotrahealni aspirat (ETA)**

ETA je neinvazivna, danas najčešća metoda za uzimanje respiratornog uzorka u jedinici intezivnog liječenja. U odnosu na bronhoskopske metode ova metoda ima nižu specifičnost (70 –85%). Preporuča se paralelno uzorkovati i komplementarne uzorke krvi za hemokulturu ukoliko se sumnja na pneumoniju.

Uzorak se uzima u intubiranih bolesnika tako da se sterilnim kateterom pažljivo aspirira endotrahealni sadržaj. Sadržaj se pohranjuje u sterilnoj posudici sa poklopcem na navoj. Kontaminacija uzorka je moguća jer se sekret usne šupljine može cijediti niz endotrahealni tubus.

U PACIJENATA SA TRAHEOSTOMOM , ENDOTRAHEALNI ASPIRAT NE BI TREBALO KULTIVIRATI RUTINSKI UKOLIKO BOLESNIK NEMA KLINIČKI SUSPEKTNU PNEUMONIJU JER SE TRAHEOSTOMA KOLONIZIRA 24 sata NAKON INSERCIJE. UKOLIKO SE ISTI IPAK ŠALJE NA MIKROBIOLOŠKU OBRADU PREPORUČA SE UZETI PRVI UZORAK PRIJE TOALETE TRAHEOSTOME, TE DRUGI UZORAK NAKON TOALETE ISTE.

Uzorak treba dostaviti u laboratorij i obraditi u roku od 2 sata.

Nalaz je gotov za 2-6 dana ovisno o izoliranim bakterijama. Preliminarni nalaz medicinsko osoblje može dobiti na telefon 300-852.

**3.2.2 Bronhoalveolarni ispirak (BAL)**

BAL je invazivna metoda kojom se zahvaća veća površina pluća. Suspektan segment pluća se ispire određenom količinom sterilne fiziološke otopine (50-150ml) pa je količina dobivenog uzorka veća nego kod PSB.

Potrebno je uzeti najmanje 1 ml uzorka.

Dobiveni je uzorak iz distalnih bronhiola i alveola, ciljano iz segmenta zahvaćenog infekcijom.

Broj kolonija od 104 u ispirku predstavlja 105 – 106  bakterija po mililitru u alveolarnoj tekućini. Uzorak sadrži polimorfonukleare i makrofage pa je pomoću direktnog mikroskopskog preparata moguće brzo potvrditi dijagnozu pneumonije.

Nedostatak je ove metode da anestetik može inhibirati rast bakterija.

Uzorak treba dostaviti u laboratorij i obraditi u roku od 2 sata.

Nalaz je gotov za 2-6 dana, ovisno o izoliranim bakterijama. Preliminarni nalaz medicinsko osoblje može dobiti na telefon 300 – 852.

**3.2.3 Aspiracija četkicom (PSB)**

 **PSB – protected specimen brush** je invazivna metoda kojom se aspirira mala količina uzorka (oko 0,001 ml) iz malog ograničenog dijela pluća, pa kvantitativna kultura od 103 CFU/ml iznosi u biti 106 CFU/ml na mjestu infekcije i uzima se kao granična vrijednost (cutoff) za dijagnozu pneumonije. Prema podacima iz literature osjetljivost ove metode je 83% a specifičnost 91%.

Ovo je najbolji uzorak za virusološku i citološku analizu.

Uzorak treba dostaviti u laboratorij i obraditi u roku od 2 sata.

Nalaz je gotov za 2-4 dana. Od izoliranih bakterija se izrađuje antibiogram. Preliminarni nalaz medicinsko osoblje može dobiti na telefon 300-852.

**3.2.4 Pleuralni punktat**

Materijal dobiven punkcijom uzima se iz primarno sterilnih mjesta, pa postupci uzimanja moraju biti izvedeni po načelima antisepse. Uzorkuje se špricom i iglom, a potrebno je uzeti što veću količinu uzorka. Dobiveni materijal pohranjuje se u transportnu podlogu za anaerobe, dio uzorka ostaje u šprici ( bez igle) i doprema se u mikrobiološki laboratorij za uzradu mikroskopskog preparata.

Nalaz je gotov za 2 – 6 dana, ovisno o izoliranim bakterijama. Nalaz se sastoji od rezultata mikroskopske pretrage, kulture i antibiograma (ovisno o izoliranim bakterijama). Preliminarni nalaz medicinsko osoblje može dobiti na telefon 300-852.

**3.2.5 Intraoperativni uzorak**

Intraoperativni uzorak – bioptat pluća se nakon uzimanja mora odmah dostaviti u mikrobiološki laboratorij u sterilnoj posudici sa poklopcem na navoj, bez formalina.

NALAZ

Nalaz intraoperativnog uzorka ovisi o vrsti uzorka i vrsti izoliranih bakterija. Može biti gotov od 2-6 dana a sve informacije o tijeku pretrage mogu se dobiti na telefon 300-852.

# Uzorci za molekularnu dijagnostiku

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Uzorak** | **Pretraga** | **Uzročnici** |
| Bris ždrijela\*Bris nosaSputumBronhoalveolarni ispirak (BAL) | Detekcija DNA bakterijskih uzročnika atipičnih pneumonija Real time PCR metodom | Mycoplasma pneumoniaeChlamydia psittaciLegionella pneumophilaChlamydophila pneumoniae |
| Bris ždrijela \*Bris nazofarinksaBronhoalveolarni ispirak (BAL) | Detekcija RNA virusa influence A / B Real time RT-PCR metodom | Virus influence tipa AVirus influence tipa B  |
| Bris ždrijela \*Bris nazofarinksaBronhoalveolarni ispirak (BAL) | Detekcija RNA RSV Real time RT-PCR metodom | Respiratorni sincicijski virus |
| Bris ždrijelaAspirat nazofarinksa | Detekcija DNA B.pertussis i B.parapertussis Real time PCR metodom | B.pertussis i B.parapertussis |
| Bris ždrijela Bris nazofarinksa | Detekcija RNA SARS CoV-2  Real time RT-PCR metodom | SARS CoV-2 virus  |

\*preporučeni uzorak

Navedena dijagnostika namijenjena je diferencijalnoj dijagnozi pneumonija sa umjereno teškom i teškom kliničkom slikom.

**Preporuka je da se pri diferencijalnoj dijagnozi pneumonija slijede algoritmi mikrobioloških pretraga a u skladu sa stručnim preporukama:**

1. **Sputum (ili drugi uzorak porijekla donjeg respiratornog trakta) i hemokultura**
2. **Detekcija antigena Streptococcus pneumoniae iz uzorka urina**
3. **Detekcija antigena Legionella pneumophila serogrupe 1 iz uzorka urina**
4. **Molekularna dijagnostika detekcije DNA bakterijskih uzročnika atipičnih pneumonija**
5. **Ciljana mikrobiološka obrada kod sumnje na TBC**

Za sve dodatne informacije možete se obratiti u Službu za mikrobiologiju i parazitologiju na telefon 300-852.

## Uzorci urina i likvora za dokazivanje antigena imunokromatografskim tehnikama

U cilju brze dijagnostike respiratornih infekcija iz nekih uzoraka je moguće napraviti dokaz antigena imunokromatografskim testovima (Tablica 1.)

Tablica 1. Dokazivanje antigena imunokromatografskim testovima

|  |  |
| --- | --- |
| Uzorak | Uzročnik |
| Urin | Legionella pneumophila serogrupa 1Streptococcus pneumoniae |
| CSF | Streptococcus pneumoniae |