

	NAVODILA ZA ODVZEM IN POŠILJANJE KUŽNIN	SOP-303-MD-DN-001
		Izdaja: 10 Stran: 1/4
Laboratorij za mikobakterije		

Navodila za odvzem in pošiljanje kužnin za mikrobiološko diagnostiko pljučne in zunajpljučne tuberkuloze in ostalih mikobakterioz

Univerzitetna klinika za pljučne bolezni in alergijo Golnik,
Laboratorij za mikobakterije, 4204 GOLNIK
tel: 04 25 69 409 (408), fax: 04 25 69 117

Tuberkuloza in netuberkulozne mikobakterioze lahko prizadenejo katerikoli organ človeškega telesa, zato je tudi pestrost kužnin, ki jih lahko preiskujemo v laboratorijih za diagnostiko tuberkuloze, velika. Ne glede na vrsto kužnine, ki jo preiskujemo, velja, da je temelj uspešne laboratorijske diagnostike obeh bolezni kakovostna kužnina, ki mora vsebovati določeno število bacilov, da jih lahko potrdimo z laboratorijskimi metodami. Količina, kakovost, hranjenje in pošiljanje kužnin v laboratorij so poleg metode dela v laboratoriju najpomembnejši faktorji, ki odločilno vplivajo na končni rezultat preiskave.

SPLOŠNA NAČELA

Ker je v številnih kužninah največkrat navzočih zelo malo bacilov mikobakterij, veljajo pri odvzemu in pošiljanju kužnin naslednja splošna načela:

- Količina poslanih kužnin naj bo čim večja in njena kakovost naj bo čim boljša**, ker je s tem večja verjetnost, da bomo uspeli mikrobiološko dokazati tuberkulozo oz. mikobakteriozo. V kolikor so kužnine poslanih v premajhni količini ali slabe kakovosti, lahko pride do lažno negativnega rezultata. **Molekularnih preiskav** brez ustrezne količine kužnine ne moremo narediti. Da poleg klasične kulture opravimo še molekularni test potrebujemo vsaj 2 ml sputuma, 10 ml izliva ali vsaj 1,5 ml likvorja.
- Za iskanje bacilov tuberkuloze v nekaterih kužninah kot so izmeček (sputum), urin in gastrična lavaža so **najprimernejše jutranje kužnine**, ki so dokazano najbolj kakovostne in vsebujejo največ bacilov tuberkuloze.
- Za potrjevanje ali izključevanje **pljučne oblike tuberkuloze priporočamo odvzem najmanj 2-3 kužnin**, odvzetih v treh različnih dneh, medtem ko za **zunajpljučno tuberkulozo priporočamo odvzem najmanj 3-5 kužnin**.
- Čas od odvzema kužnine do dostave v laboratorij naj bo čim krajši. Priporočamo, da **kužnine pošljete v laboratorij čim prej oz. da jih zbirate tekom dneva in jih na koncu delovnega dne odpošljete**. Do odpošiljanja **hranite kužnine v hladilniku**. V večini kužnin so kot normalna flora prisotne saprofitne bakterije, ki se množijo približno 20-krat hitreje kot mikobakterije in jih lahko prerastejo. Zato lahko pride do kontaminacije gojišča in v takšnem primeru podamo rezultat preiskave: **»Saprofitne bakterije so prerastle vsa gojišča. Prosimo za nov vzorec!«** Najpogostejši primeri takšnih kužnin so blato, urin, pa tudi izmeček.

ODVZEM KUŽNIN

Poleg splošnih načel veljajo za odvzem in pošiljanje posameznih kužnin še specifična priporočila oz. zahteve:

- Najbolj kakovosten je jutranji **izmeček**, odvzet takoj, ko se bolnik prebudi. Pred odvzemu kužnine mora medicinsko osebje bolnika podučiti, kako naj se izkašlja in izpljune izmeček. Bolnik naj najprej spere usta z vodo, da odstrani morebitne delce hrane. Razlikovati mora slino in nazofaringealni sekret od izmečka, ki ga dobimo iz pljuč po globokem kašljanju. Tako za potrjevanje tuberkuloze kot za izločanje suma na

Veljaven od: 25. 10. 2023	Pripravil: Manca Žolnir-Dovč, Špela Klemen	Pregledal: Nadja Polanc, Eva Sodja, Jasna Šobar, Sandra Ažman, Irma Perko, Nataša Debeljak	Odobril: Manca Žolnir-Dovč
Dokumenti so obvladovani računalniško. Na papir natisnjeni dokumenti predstavljajo kopijo. V primeru razlik med dokumenti se uporabi izvorni dokument (elektronski ali pisni overjeni dokument), ki se nahaja pri skrbniku dokumenta.			

Oznaka dok. SOP-303-MD-DN-001	Izdaja: 10	Naslov dokumenta NAVODILA O ODVZEMU IN POŠILJANJU KUŽNIN	Stran 2 od 4
----------------------------------	---------------	---	--------------

tuberkulozo priporočamo odvzem najmanj dveh do treh jutranjih izmečkov, njihova količina naj bo med 3 in 10 ml.

- Kadar bolnik ne more oddati kakovostnega izmečka, priporočamo odvzem **induciranega izmečka** s toplo sterilno hipertonične raztopino natrijevega klorida (3-10 %). Tudi v takšnih primerih velja standard odvzema dveh do treh induciranih izmečkov. Na napotnico je potrebno označiti, da gre za inducirani izmeček.
- **Izpirek bronha in bronhoalveolarni izpirek** - Za preiskavo pošljite vsaj 5 ml kužnine, ki naj vsebuje čim manj anestetika, saj ta inhibira rast bacilov mikobakterij.
- Kadar pošiljate **urin**, priporočamo odvzem od 40 ml do 300 ml jutranjega urina (srednji curek) po predhodnem umivanju ali ves urin, dobljen s katetrom ali suprapubično aspiracijo. Priporočamo pregled vsaj treh do petih jutranjih urinov, ki jih odzimate v treh do petih različnih dneh. Urin odpošljite v laboratorij obvezno še isti dan, saj vsebuje normalno floro, ki se zelo hitro množi in lahko preraste mikobakterije.
- Pred odvzemom **izlivov (pleuralni, peritonealni, perikardialni, punktati sklepov in podobno)** mesto odvzema dobro razkužite. Za preiskavo pošljite čim večjo količino kužnine (najmanj 10 - 15 ml), ki ste jo odvzeli v epruveto s sredstvom proti strjevanju (heparin ali natrijev citrat). Epruvete s heparinom imajo zelen zamašek, epruvete z natrijevim citratom pa svetlo moder. Takoj ob odvzemu izliv dobro premešajte z obračanjem epruvete. V kolikor izliva niste odvzeli v epruvete s sredstvom proti strjevanju, morate vzorcu čim prej dodati heparin (0,2 mg/ml ali 17 IU/ml kužnine), da preprečite koagulacijo izliva.
- Za preiskavo **likvorja** priporočamo čim večjo količino kužnine (med 2 do 10 ml), nikakor pa ne manj kot 2 ml, ki ga odzimate v sterilno epruveto brez sredstva proti strjevanju. Kadar ni možen enkratni odvzem navedene količine, lahko punktirate večkrat.
- Iskanje morebitnih mikobakterij v **krvi** priporočamo predvsem pri imunsko kompromitiranih bolnikih, ko sumimo na hematogeni razsoj mikobakterij. Kri odzimate v posebne hemokulturne stekleničke za mikobakterije BACTEC Myco/F Lytic Medium ali izjemoma (za klasično mikroskopijo in kultivacijo) v običajno epruveto s sredstvom proti strjevanju krvi (heparin (epruvete z zelenim zamaškom) ali natrijev citrat (epruvete s svetlomodrim zamaškom)). Hemokulturne stekleničke za mikobakterije (BACTEC Myco/F Lytic Medium) lahko dobite:
 - po naročilu v našem laboratoriju Golnik na telefonski številki 04 25 69 409 ali 411 ali 408;
 - za UKC LJ na Kliniki za infekcijske bolezni in vročinska stanja Ljubljana (KIBVS). Za prevzem se lahko dogovorite med tednom dopoldne na telefonski številki 01 522 3388 (laboratorij KIBVS), ponoči ali preko konca tedna pa na številki 01 522 8835 (dežurna medicinska sestra za otroke).
- **Kostni mozeg** odzimate v posebne hemokulturne stekleničke za mikobakterije BACTEC Myco/F Lytic Medium, ali izjemoma v običajne epruvete s sredstvom proti strjevanju krvi – enako kot pri odvzemu krvi (glej zgornjo točko!).
- **Odvzem blata** navadno priporočamo samo pri bolnikih, ki so okuženi z virusom HIV. V sterilno posodico odzimate od 1 do 5 g blata in ga čim hitreje pošljite v laboratorij, saj vsebuje veliko število saprofitnih bakterij, ki prerastejo mikobakterije.
- **Želodčni sok ali gastrično lavažo** obvezno odzimate zgodaj zjutraj s pomočjo fiziološke raztopine in to običajno pri mlajših otrocih. Vzorcju takoj po odvzemu dodajte 100 mg natrijevega bikarbonata = sode bikarbone (za nevtralizacijo kislega pH v želodcu).
- **Punktati bezgavke** je odlična kužnina za potrjevanje / izključevanje suma na tuberkulozo ali mikobakteriozo bezgavk. Punktirajte čim večjo količino in po punkciji kužnino prestavite v sterilno epruveto. Brizgalko sperite s sterilno fiziološko raztopino in jo dodajte kužnini.

Oznaka dok. SOP-303-MD-DN-001	Izdaja: 10	Naslov dokumenta NAVODILA O ODVZEMU IN POŠILJANJU KUŽNIN	Stran 3 od 4
----------------------------------	---------------	---	--------------

- **Biopsija tkiva (razen bronhoskopski vzorci)** - aseptično odvzemetite prizadeto tkivo v sterilno posodico, ki ji dodate 2 kapljici fiziološke raztopine, da preprečite izsušitev kužnine. Tkivo odvzeto v formalin ni uporabno za mikrobiološke preiskave.
- **Material iz rane** - za diagnostiko mikobakterij velja, da sta biopsija tkiva ali aspirat tekočine iz rane boljši kužnini kot pa bris rane. Zato bris rane priporočamo le kot skrajno možnost. V takšnem primeru odvzemetite mokri bris, ki ga predhodno namočite v sterilno fiziološko raztopino. Bris pred odvzemom zavrtite, da na njem ostane čim več vzorca. Suhi bris ali bris s trdim gojiščem za preiskavo ni primeren.
- **Bris ušesa, tkiva** – bris ni najboljša kužnina za diagnostiko mikobakterij. Zato je še toliko bolj pomembno, da je količina kužnine čim večja. Nujno je, da suhi bris pred odvzemom navlažite s sterilno fiziološko raztopino, ob odvzemu ga zavrtite ter v sterilnem tulcu ali epruveti pošljete v laboratorij. Suhi bris ali bris s trdim gojiščem za preiskavo ni primeren.

NAPOTNICA IN E-NAPOTITEV V NAŠ LABORATORIJ

Vsak vzorec, ki ga pošljete v Laboratorij za mikobakterije Klinike Golnik, mora biti opremljen tudi s papirno napotnico. Vrsta papirne napotnice je lahko različna:

1. V kolikor z našim laboratorijem **e-poslujete**, v Vašem bolnišničnem sistemu vnesete vse zahtevane podatke o bolniku in kužnini v program, na koncu pa v tem programu tudi natisnete naročilo/napotnico, ki jo dodate kužnini.
2. Na naši internetni strani »Klinika Golnik / Laboratorij za mikobakterije« lahko najdete navodila »Zunanji naročniki – vnos e-naročila«, kakor tudi našo **modro napotnico**, ki jo enostavno natisnete in dodate kužnini bolnika. Modre napotnice lahko naročite po telefonu tudi v našem laboratoriju.
3. Zelene specialistične napotnice praviloma niso namenjene pošiljanju kužnin, zato se jih prosim izogibajte. V skrajnem primeru lahko kot napotnico uporabite tudi navaden **list papirja, ki pa mora vsebovati vse podatke o naročniku preiskave in o bolniku**, ki so zahtevani na naši modri napotnici.

POŠILJANJE KUŽNIN

Vse kužnine je potrebno odvzeti v **vodotesne posodice in pred pošiljanjem še enkrat preveriti, da je posodica dobro zaprta**. Ne tako redko se zgodi, da se zaradi slabo zaprte posodice kužnina polije.

Transport kužnin v Laboratorij za mikobakterije Klinike Golnik je možen na 2 načina:

- **preko kurirske službe**, ki jo organizirate vi in/ali mi. Naš kurir v Ljubljani pobira kužnine za Kliniko Golnik vsak delovni dan od ponedeljka do petka po 11. uri na 2 zbirnih mestih:
 - v Pulmološko-alergološki ambulanti Klinike Golnik v Ljubljani, Zaloška 29, Ljubljana – na to zbirno mesto lahko do 11. ure prinese vzorce tudi Vaš kurir;
 - za Univerzitetni klinični center Ljubljana pa v kurirski sobi UKC v kleti.
- **preko uradne pošte** - za takšne primere je zelo pomembno, da se držimo navodil o pošiljanju kužnin. Pred transportom epruveto z vzorcem zavijte v vpojen papir (npr. staničevino) in dajte v kovinski tulec, ki jih lahko naročite v Laboratoriju za mikobakterije Klinike Golnik. Kovinski tulec za transport zavijte v plastično vrečko, ki jo neprodušno zaprete. Vsako kužnino zaprete v svojo vrečko. Napotnice za preiskavo dajte v posebno vrečko (vse napotnice lahko v eno vrečko). Tako pripravljene kužnine lahko zapakirate v rumeno kuverto z mehurčki, kamor napišite Vaš in naš naslov.

Kljub temu da je dnevno pošiljanje kužnin povezano z več zadolžitvami in večjimi stroški, bodo rezultati iz tako poslanih kužnin zagotovo bolj kakovostni in verodostojni, zagotovo bodo marsikdaj nadomestili sedaj potrebno ponovno pošiljanje kužnin.

Pošiljanje **pozitivnih kultur bacilov TB ali netuberkuloznih mikobakterij v tujino** pa je podrobneje opisano v našem SOP-OD-303-014.

VIRI

1. **Žolnir-Dovč M, Bidovec Stojković U.** Laboratorijska diagnostika in molekularna epidemiologija tuberkuloze V: Beović B (ur.), Sterle F (ur.), Tomažič J (ur.). Okužbe pri starostnikih : novosti. Ljubljana: Sekcija za protimikrobno zdravljenje SZD: Klinika za infekcijske bolezni in vročinska stanja, Univerzitetni klinični center: Katedra za infekcijske bolezni in epidemiologijo MF, 2010: 197-203.
2. **Heiferts L.** Mycobacteriology laboratory. Clin Chest Med 1997; 18: 35-54.
3. **American Thoracic Society.** Diagnostic standards and classification of tuberculosis. Am Rev Respir Dis 1990;142: 725-35.

Oznaka dok. SOP-303-MD-DN-001	Izdaja: 10	Naslov dokumenta NAVODILA O ODVZEMU IN POŠILJANJU KUŽNIN	Stran 4 od 4
----------------------------------	---------------	---	--------------

4. **Master RN.** Mycobacteriology. In: Isenberg HD (ed). Clinical microbiology procedures handbook. Washington: American Society for Microbiology, 1992: 3.2.-3.3.
5. **European Centre for Disease Prevention and Control.** Handbook on tuberculosis laboratory diagnostic methods in the European Union. Updated 2018. Stockholm: ECDC; 2018: 1-115.
6. **SU, NIS, PHE.** UK Standards for Microbiology Investigations – Investigation of Specimens for *Mycobacterium* species. Bacteriology B 40. Issue no. 7.3; 2020: 1-56.