



# INTERVENCIJE ZDRAVSTVENE NEGE U POTVRDI DIJAGNOZE ZARAZNIH BOLESTI



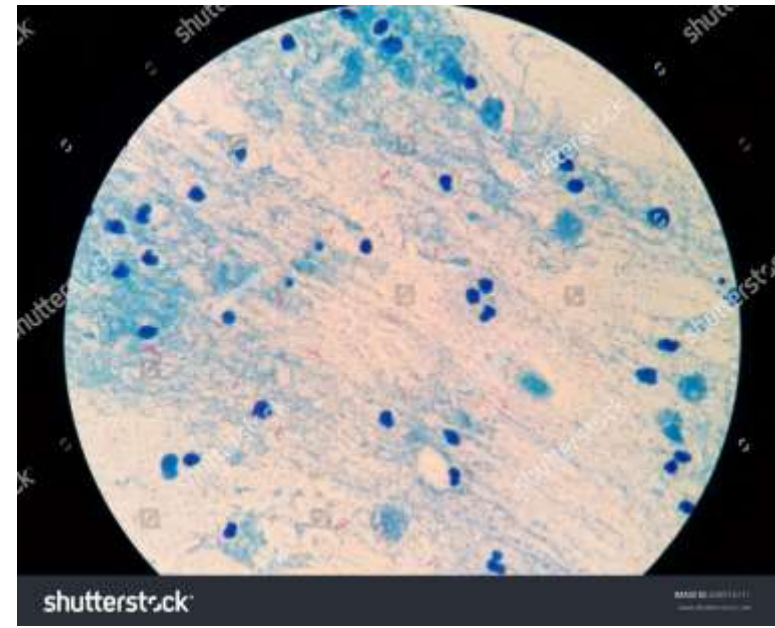
*Prof. dr sc. med. Dejan Živanović*

# IZOLACIJA UZROČNIKA ZARAZNE BOLESTI

- Izolacija uzročnika predstavlja metodu sigurne potvrde dijagnoze zarazne bolesti; u zavisnosti od oboljenja, uzročnici se mogu izolovati brisom kože, sluznica, iz uzoraka krvi, sputuma, stolice, urina, likvora i drugih bioloških materijala
- Izolacija uzročnika zaraznih bolesti se može sprovesti:
  - ✓ direktnom mikroskopijom
  - ✓ uzgajanjem na hranljivoj podlozi (krvna, žučna, čokoladna, jajna i dr.)
  - ✓ uzgajanjem na kulturi ćelija (pileći embrion)
  - ✓ inokulacijom na oglednim životinjama

# IZOLACIJA UZROČNIKA ZARAZNE BOLESTI - nastavak

- **Direktna mikroskopija** – najjednostavnija i najbrža metoda potvrde uzročnika iz biološkog materijala koji potencijalno sadrži patogene mikroorganizme; koristi se u dijagnostici antraksa, amebne dizenterije, malarije, skabiesa, drugih parazitarnih oboljenja, tuberkuloze
- **Uzgajanje kulture na hranljivoj podlozi** – jedan od najčešće korišćenih i najsigurnijih načina za potvrdu zaraznih bolesti; sprovodi se zasejavanjem uzoraka biološkog materijala koji potencijalno sadrži patogene mikroorganizme na različite hranljive podloge (u zavisnosti od bakterijskog soja i da li je u pitanju aerob ili anaerob) koje predstavljaju mešavinu različitih jedinjenja u kojima se bakterije mogu uzgajati u veštačkim uslovima; **hranljive podloge mogu biti čvrste** – tzv. **agar** (krvni, čokoladni, jajni, Lowenstein) **ili tečne** – tzv. **bujon** (žučni bujon, mesna voda, peptoni, ekstrakt kvasca)



Colonies of *Mycobacterium tuberculosis* on Lowenstein-Jensen (LJ) Medium



# UZIMANJE UZORAKA ZA ZASEJAVANJE NA HRANLJIVU PODLOGU - pravila

- Pravila se odnose na:
  - ✓ **vreme uzimanja uzoraka** – uzorci se uzimaju onda kada su izraženi karakteristični simptomi bolesti, idealno pre primene antibiotika (npr. Uzorci krvi za hemokulturu se uglavnom uzimaju za vreme skoka telesne temperature, koprokulturu u vreme kada se uzročnici izlučuju stolicom)
  - ✓ **način uzimanja uzoraka** – uzorci se uzimaju u preporučenoj količini u sterilne laboratorijske posude bez ili sa hranljivom podlogom, aseptičnom tehnikom
  - ✓ **vrstu uzoraka i karakteristike materijala** – potrebno je uzeti uzorke onog biološkog materijala u kome se mogu pronaći uzročnici bolesti; ukoliko je moguće, uzorci se uvek uzimaju sa karakterističnog mesta (krv ili sluz u stolici)
  - ✓ **vrstu podloge** – podloga se bira na osnovu bioloških karakteristika uzročnika čije se prisustvo očekuje i na kojima će se najbrže razmnožavati i rasti (aerobna ili anaerobna, krvna, žučna i dr.); podloge se čuvaju na sobnoj temperaturi, kako bi bakterije imale povoljne uslove za razvoj nakon nanošenja uzorka materijala

# TRANSPORT UZORAKA NA HRANLJIVOJ PODLOZI U LABORATORIJU

- Pravila:
  - ✓ sprečiti izlivanje uzoraka materijala u spoljašnju sredinu (hermetički zatvorene posude)
  - ✓ uzorke čuvati i transportovati u termostatu na temperaturi 37°C, ili ih **što pre** dopremiti u laboratoriju
  - ✓ propisno obeležiti uzorke (ime, prezime, JMBG, broj istorije, odeljenje koje šalje uzorak, vrsta uzorka)
  - ✓ uz uzorke dostaviti pravilno popunjene propratne uputnice za laboratoriju (sadrže iste podatke kao i uzorci, kao i traženu vrstu pregleda)

# UZGAJANJE NA KULTURI ĆELIJA I INOKULACIJA OGLEDNIH ŽIVOTINJA

- **Kultura ćelija** predstavlja sistem živih ćelija koje žive, metabolišu i razmnožavaju se *in vitro* u specijalnim hranljivim podlogama (humana, animalna, tumorska, embrionalna); uzgajanje uzročnika na kulturi ćelija se koristi uglavnom za potvrdu dijagnoze virusnih zaraznih bolesti, kao i oboljenja izazvanih onkogenim virusima
- **Inokulacija oglednih životinja** predstavlja metod ubrizgavanja telesne tečnosti obolele osobe odabranoj laboratorijskoj životinji (pacov, zec, zamorac), sa ciljem da se izazove isto oboljenje kao i kod pacijenta; sprovodi se kada dijagnozu nije moguće potvrditi drugim metodama (kod tuberkuloze, difterije, tetanusa i botulizma)

# DIREKTNO VIRUSOLOŠKO ISPITIVANJE

- Direktnim virusološkim testovima dokazuje se prisustvo virusnih antigena i virusna RNK ili DNK u bolesničkom biološkom materijalu (bris sluznice, krvni serum, likvor)
- **Najčešće se koristi PCR tehnika** (eng. *Polymerase Chain Reaction Test*) - metoda za brzo umnožavanje velikog broja kopija specifične sekvence DNK virusa u *in vitro* uslovima, čime se od male početne količine DNK virusa dobija veliki broj kopija željenog fragmenta koje se potom mogu detektovati
- **PCR reakcija se odlikuje visokom specifičnošću i visokom senzitivnošću**, zbog čega se smatra izuzetno važnom metodom u dijagnostici zaraznih bolesti



# INDIREKTNO VIRUSOLOŠKO ISPITIVANJE - serološke metode

- **Serološke analize se koriste uglavnom za potvrdu virusnih infektivnih oboljenja, a zasnivaju se na dokazivanju prisustva specifičnih antitela u serumu obolele osobe (ponekad i u drugim telesnim tečnostima, npr. pleuralnom ili peritonealnom eksudatu) - *dokazuje se imunološki odgovor domaćina na prisustvo virusa***
- Za serološko testiranje je potrebno oko 5ml venske krvi koja se drži na sobnoj temperaturi sve do formiranja koaguluma; nakon toga, uzorak se centrifugira, i serum je spreman za testiranje
- Najčešće korišćene serološke metode su:
  - ✓ **ELISA test** (eng. *Enzyme-linked immunosorbent assay*) – koristi se za utvrđivanje prisustva antitela na patogene organizme (prvenstveno bakterije i viruse), ali se ovim testom mogu detektovati i specifična antitela za određene vrste tumora i druga oboljenja
  - ✓ **RIA test** (eng. *Radioimmunoassay*) - metoda za merenje koncentracije biološki aktivnih supstanci (virusnih markera) u serumu

# KOŽNE PROBE

- Kožne probe predstavljaju dijagnostičku metodu kojom se izaziva alergijska reakcija parenteralnim unošenjem niske doze mrtvih bakterija, bakterijskog toksina ili drugih antigenih frakcija
- Cilj primene kožnih proba je procena imunološkog statusa neke osobe za određeno infektivno oboljenje
- Mesto izvođenja kožnih proba je gornja spoljašnja trećina podlaktice
- **Pozitivna reakcija na mestu aplikacije** (crvenilo, otok, induracija) govori u prilog tome da je uzročnik bolesti aktuelno prisutan u organizmu bolesnika, ili da je bolesnik već ranije bio u kontaktu sa uzročnikom, ali se na osnovu pozitivne reakcije **ne može** utvrditi vreme nastanka infekcije
- Neke kožne probe se zasnivaju na stečenom imunitetu, pa izostanak reakcije u tom slučaju (negativna reakcija) govori u prilog tome da je osoba imuna na tu bolest

# PROBA NA BRUCELOZU (Burnetova proba)

- Proba se izvodi parenteralnom primenom suspenzije brucela ubijenih toplotom ili prečišćene proteinske frakcije
- **Način izvođenja probe:**
  - ✓ **doza:** 0,1 ml suspenzije
  - ✓ **način primene:** intradermalno
  - ✓ **reakcija:** induracija i otok na mestu aplikacije veličine 3-4 cm
  - ✓ **vreme čitanja reakcije:** 24h i 48h
  - ✓ **intenzitet reakcije:** jedan ili više pluseva (+, ++, +++...) – pozitivna reakcija
  - ✓ **značenje pozitivne reakcije:** osoba je aktuelno ili je bila u kontaktu sa izazivačem

# PROBA NA EHINOKOK

- Proba se izvodi parenteralnom primenom antigena koja se dobija od pantljičare psa
- **Način izvođenja probe:**
  - ✓ **doza:** 0,25 ml suspenzije
  - ✓ **način primene:** intradermalno
  - ✓ **reakcija:** induracija i otok na mestu aplikacije
  - ✓ **vreme čitanja reakcije:** 30 min. i 24h
  - ✓ **intenzitet reakcije:** nakon 30 minuta otok i infiltrat zajedno prečnika oko 2,5 cm, a nakon 24h otok prečnika oko 4 cm, a infiltrat prečnika većeg od 2,5 cm (pozitivna reakcija)
  - ✓ **značenje pozitivne reakcije:** osoba je aktuelno ili je bila u kontaktu sa izazivačem
  - ✓ **NAPOMENA:** reakcija ostaje pozitivna celog života

# PROBA NA DIFTERIJU (Šikova proba)

- Sprovodi se u cilju određivanja imuniteta za difteriju, i izvodi se parenteralnom primenom sterilnog rastvora difteričnog toksina u razblaženju 1:50
- **Način izvođenja probe:**
  - ✓ **doza:** 0,1-0,2 ml rastvora
  - ✓ **način primene:** intradermalno
  - ✓ **reakcija:** induracija, crvenilo i otok na mestu aplikacije
  - ✓ **vreme čitanja reakcije:** nakon 24-48h, 4-5 dana i 7 dana
  - ✓ **intenzitet reakcije:** infiltrat je prečnika 1-2 cm, a veličina crvenila i otoka se obeležava jednim ili više znakova +, u zavisnosti od prečnika (5-10 cm: +; 11-15 cm: ++; 16 ili više cm: +++)
  - ✓ **značenje pozitivne reakcije:** reakcija preko 16 cm (+++) je znak odsustva imuniteta protiv difterije (osoba nije vakcinisana ili nije stvorila antitela)

# PROBA NA TOKSOPLAZMOZU

- Proba se izvodi parenteralnom primenom ekstrakta mrtvih parazita u razblaženju 1:500
- **Način izvođenja probe:**
  - ✓ **doza:** 0,1 ml rastvora
  - ✓ **način primene:** intradermalno
  - ✓ **reakcija:** crvenilo i otok na mestu aplikacije
  - ✓ **vreme čitanja reakcije:** nakon 24-48h
  - ✓ **intenzitet reakcije:** otok prečnika 0,5 ili više cm (pozitivna reakcija)
  - ✓ **značenje pozitivne reakcije:** osoba je aktuelno ili je bila u kontaktu sa izazivačem

# PROBA NA TRIHINELOZU

- Proba se izvodi parenteralnom primenom ekstrakta mrtvih, osušenih i isitnjenih trihinela
- **Način izvođenja probe:**
  - ✓ **doza:** 0,01-0,02 ml ekstrakta
  - ✓ **način primene:** intradermalno
  - ✓ **reakcija:** infiltrat i crvenilo na mestu aplikacije
  - ✓ **vreme čitanja reakcije:** nakon 20 min.
  - ✓ **intenzitet reakcije:** infiltrat prečnika 3-30 mm (pozitivna reakcija)
  - ✓ **značenje pozitivne reakcije:** osoba je aktuelno ili je bila u kontaktu sa izazivačem

# TUBERKULINSKE PROBE

- Tuberkulinske probe predstavljaju parenteralno unošenje tuberkulina – preparata koji sadrži proteine prouzrokovaca tuberkuloze (*Mycobacterium tuberculosis, s. Bacillus Kochii*), sa ciljem da se kod osoba koje su vakcinisane ili ranije bile u kontaktu sa bacilom TB izazove alergijska reakcija
- **Danas se uglavnom radi Mantuova proba PPD tuberkulinom** (eng. *Purified Protein Derivat*) koji se dozira u internacionalnim jedinicama (3 i.j. u 0,1 ml rastvora); preparat se čuva u frižideru i na taj način ostaje stabilan tri meseca
- Pirkeova proba (skarifikacijom) i Morova proba (flasterima) se danas više ne koriste u praksi



# TUBERKULINSKE PROBE – Mantuova proba

- **Način izvođenja Mantuove (*Mantoux*) probe:**

- ✓ **doza:** 0,1 ml PPD preparata jačine 3 i.j.

- ✓ **način primene:** intradermalno

- ✓ **reakcija:** induracija i crvenila na mestu aplikacije

- ✓ **vreme čitanja reakcije:** nakon 72h

- ✓ **intenzitet reakcije:** infiltrat prečnika većeg od 5 mm (pozitivna reakcija)

- ✓ **značenje pozitivne reakcije:** osoba je aktuelno ili je bila u kontaktu sa izazivačem TB

# KVANTIFERONSKI TEST

- QuantiFERON test (QFT) je *in vitro* dijagnostički test za dijagnostiku latentne tuberkulozne infekcije (radi se iz uzorka krvi)
- **Na interpretaciju QFT ne utiče prethodni vakcinalni status** – ukoliko vakcinisana osoba nikada nije bila u kontaktu sa bacilom TB, ovaj test će biti negativan (za razliku od PPD testa koji bi bio pozitivan)
- **Klinički značaj:** pozitivan QFT kod osoba koje se pripremaju za lečenje biološkom terapijom (reumatoidni artritis, psorijazni artritis, hronične inflamatorne bolesti creva) zahteva lečenje latentne tuberkulozne infekcije izoniazidom u trajanju od šest meseci (mesec dana od početka lečenja izoniazidom se može započeti primena biološke terapije)

# BIOHEMIJSKE I HEMATOLOŠKE ANALIZE

- Za dokazivanje i procenu stepena infekcije se koriste sledeće laboratorijske analize (indikator inflamacije):
  - ✓ **CRP (C-reaktivni protein)** - protein krvi koji sintetišu ćelije jetre u prisustvu nekog zapaljenskog procesa u organizmu i šalju ga u krvotok; kako je CRP nespecifičan opšti marker inflamacije, povišene vrednosti ukazuju na prisustvo zapaljenskog procesa, ali ne i na njegovu lokalizaciju i uzrok; normalne (referentne vrednosti) CRP u krvi su <10 mg/L;
  - ✓ **Fibrinogen** – osim što je neophodan proteinski faktor (faktor I) u procesu koagulacije krvi, fibrinogen je i nespecifičan marker inflamacije – povišene vrednosti (više od 4g/L) ukazuju na prisustvo inflamatornih procesa u organizmu
  - ✓ **Prokalcitonin** - prohormon koji se u organizmu najčeće stvara kao odgovor na bakterijske infekcije; određuje se kod obolelih koji imaju znakove i simptome sepse, ili kod obolelih od sistemske infekcije koji su u opasnosti od progresije bolesti do sepse i septičkog šoka, kao i za praćenje toka bolesti i odgovora na antimikrobnu terapiju; granična vrednost za prokalcitonin je 2,69 ng/ml

# BIOHEMIJSKE I HEMATOLOŠKE ANALIZE -nastavak

- **Sedimentacija eritrocita** – spontano taloženje eritrocita *in vitro* pod dejstvom sile gravitacije; brzina taloženja se izražava visinom stuba nataloženih eritrocita u mm nakon 2h, a povišene vrednosti (M: 15-20 mm, Ž: 20-30 mm) uglavnom ukazuju na prisustvo inflamatornog procesa u organizmu (može se sresti i kod nekih drugih stanja, kako fizioloških, tako i patoloških)
- **Kompletna krvna slika sa leukocitarnom formulom** – povišene vrednosti leukocita - *leukocitoza* (iznad  $4-10 \times 10^9/L$ ) je nespecifičan marker inflamacije, dok poremećen odnos pojedinih ćelija bele krvne loze može konkretnije upućivati na prirodu infektivnog oboljenja:
  - ✓ povećan broj neutrofila/monocita – bakterijske infekcije
  - ✓ povećan broj eozinofila/bazofila – parazitarne infekcije
  - ✓ povećan broj limfocita – virusne infekcije

# HEMOKULTURA

- Hemokultura je laboratorijski dijagnostički test koji omogućava otkrivanje prisustva mikroorganizama u krvi, njihovu identifikaciju (biogram) i utvrđivanje osjetljivosti na pojedine antibiotike (antibiogram)
- Prema svojoj fiziologiji krv je sterilna; nalaz hemokulture ima ogroman značaj u infektologiji i kliničkoj medicine uopšte: **pozitivna hemokultura identifikuje ujedno i uzročnika infekcije, dok negativna hemokultura ukazuje da se radi o lokalnoj infekciji**
- **Najčešći uzročnici pozitivnih hemokultura su bakterije** (termin hemokultura se najčešće i odnosi na detekciju bakterija u krvi), iako i gljivice, virusi i paraziti takođe mogu prodreti u krv i izazvati sistemsku infekciju

# HEMOKULTURA - podloge

- **Postoje tri vrste podloga za hemokulturu:**

- ✓ podloge za aerobne mikroorganizme

- ✓ podloge za anaerobne mikroorganizme

- ✓ podloge za decu i osobe od kojih se ne može uzeti dovoljna količina krvi za standardne podloge

- Podloge za hemokulturu se čuvaju na sobnoj temperaturi (15-30°C), zaštićene od svetlosti

# HEMOKULTURA - procedura

- **Hemokultura se po pravilu uzima najkasnije 30-90 minuta od skoka vrednosti telesne temperature**, nekoliko puta tokom 24h (može se uzeti i „na hladno“, ukoliko lekar tako indikuje)
- Uzorak krvi za hemokulturu obavezno uzeti venepunkcijom periferne vene, a ne iz vaskularnog katetera (ukoliko lekar ne indikuje drugačije)
- **Palpacijom odabrati venski sud za punkciju pre nego što se mesto punkcije dezinfikuje** na sledeći način:
  - ✓ idući od centra ka periferiji, mesto punkcije u prečniku od 5 cm dezinfikovati sterilnim tupferom gaze natopljenim 70% etanolom; ne brisati, već ostaviti 1 min. da se koža osuši;
  - ✓ idući od centra ka periferiji, mesto punkcije u prečniku od 5 cm dezinfikovati sterilnim tupferom gaze natopljenim 2% rastvorom povidon-joda; ne brisati, već ostaviti 1 min. da se koža osuši;
  - ✓ ukoliko se tokom venepunkcije mora dotaknuti dezinfikovana regija, to se može uraditi isključivo sterilnim rukavicama

# HEMOKULTURA – procedura (nastavak)

- Punktirati krvni sud aseptičnom tehnikom i aspirirati 10-20 ml krvi
- Skinuti poklopac bočice sa anaerobnom podlogom aseptičnom tehnikom, a zatim u nju ubrizgati 5-10 ml krvi nakon što je promijenjena igla na brizgalici; zatim ponovo promeniti iglu i ponoviti postupak sa aerobnom podlogom
- **Važno:** uvek prvo zasejati anaerobnu, pa aerobnu podlogu; obavezno izbaciti vazduh iz brizgalice pre zasejavanja anaerobne podloge
- Zasejane podloge blago okrenuti nekoliko puta (ne mućkati), kako bi se krv ravnomerno pomešala sa podlogom
- Nakon propisnog obeležavanja uzoraka, uzorke sa uputnicom (ime i prezime pacijenta, JMBG, odeljenje koje šalje uzorak, broj istorije bolesti, uputne dijagnoza, vrednost izmerene telesne temperature, ordinirajući lekar i medicinska sestra) što pre dostaviti u laboratoriju, ili ih do otpremanja držati u termostatu na temperaturi 37°C



*Hvala na pažnji*

*kontakt:  
zivanovic\_dejan@yahoo.com*