



Hrvatski liječnički zbor
Hrvatsko društvo za kliničku mikrobiologiju
Smjernice za mikrobiološku dijagnostiku

BAKTERIOLOŠKA DIJAGNOSTIKA INFEKCIJA MOKRAĆNOG I SPOLNOG SUSTAVA

Tonkić M, Sušić E, Goić-Barišić I, Kaliterna V, Tambić Andrašević A

Svibanj, 2017.

hd:km

BAKTERIOLOŠKA DIJAGNOSTIKA INFEKCIJA MOKRAĆNOG I SPOLNOG SUSTAVA

Tonkić M¹, Sušić E², Goić-Barišić I¹, Kaliterna V³, Tambić Andrašević A⁴

¹ Klinički bolnički centar Split, Medicinski fakultet Split, Split

² Zavod za javno zdravstvo Šibensko-kninske županije, Šibenik

³ Nastavni zavod za javno zdravstvo Splitsko-dalmatinske županije, Split

⁴ Klinika za infektivne bolesti „Dr. Fran Mihaljević“, Zagreb

Izdavač

HRVATSKI LIJEČNIČKI ZBOR
HRVATSKO DRUŠTVO ZA KLINIČKU MIKROBIOLOGIJU

Tisak

INTERGRAF-BI

Lektura

Mojprijevod.hr

Zagreb, 2017.

ISBN 978-953-7959-62-3

Citiranje smjernica

Ovu publikaciju potrebno je citirati na sljedeći način:

Tonkić M, Sušić E, Goić-Barišić I, Kaliterna V, Tambić Andrašević A. Bakteriološka dijagnostika infekcija mokraćnog i spolnog sustava: smjernice za mikrobiološku dijagnostiku Hrvatskog društva za kliničku mikrobiologiju Hrvatskog liječničkog zbora. Zagreb: Hrvatsko društvo za kliničku mikrobiologiju; 2017.

SADRŽAJ

PREGOVOR	4
1. INFEKCIJE MOKRAČNOG SUSTAVA	5
1.1. Uvod	5
1.2. Čimbenici rizika za nastanak infekcija mokraćnog sustava	5
1.3. Patogeneza infekcija mokraćnog sustava	6
1.4. Učestalost infekcija mokraćnog sustava	6
1.5. Termini i definicije	6
1.6. Klasifikacija infekcija mokraćnog sustava	7
1.7. Uzročnici infekcija mokraćnog sustava	8
1.8. Indikacije za urinokulturu	9
1.9. Predanalitička faza ispitivanja	10
1.10. Analitička faza (laboratorijsko testiranje)	13
1.11. Identifikacija patogena i testiranje osjetljivosti na antimikrobna sredstva	19
1.12. Izdavanje nalaza urinokulture	19
2. INFEKCIJE MUŠKOG SPOLNOG SUSTAVA	21
2.1. Uvod	21
2.2. Uretritis	22
2.3. Prostatitis	25
2.4. Epididimitis	29
2.5. Balanitis i balanopostitis	30
2.6. Orhitis	31
3. INFEKCIJE ŽENSKOG SPOLNOG SUSTAVA	32
3.1. Uvod	32
3.2. Bakterijska vaginoza, vaginitis, vulvovaginitis	33
3.3. Infekcije povezane s trudnoćom	36
3.4. Cervicitis, uretritis	37
3.5. Endometritis, Salpingitis,, zdjelična upalna bolest	40
3.6. Infekcije Bartolinijeve žlijezde	41

PREDGOVOR

Infekcije mokraćnog sustava (IMS) predstavljaju najčešće bakterijske infekcije u izvanbolničkoj populaciji te izuzetno česte komplikacije vezane uz bolničko liječenje. Bakteriološka dijagnostika je naoko jednostavna i široko rasprostranjena, s obzirom da je uzorak urina najčešće jednostavno dobiti kao uzorak za laboratorijsku pretragu. Uzorak urina se, međutim, lako kontaminira obilnom mikrobiotom periuretralnog područja, što može dovesti do lažno pozitivnih nalaza koji liječenje bolesnika odvođe u krivom smjeru i čest su uzrok prekomjerne uporabe antibiotika. Činjenica je kako su *Escherichia coli* i *Staphylococcus saprophyticus* bakterije koje imaju potencijal izazivanja infekcija mokraćnog sustava, no istovremeno predstavljaju i osnovne bakterijske vrste koje koloniziraju periuretralno područje. S druge strane, u uvjetima smanjene otpornosti domaćina, skoro svaka bakterija može uzrokovati IMS što u laboratorijskoj dijagnostici dodatno otežava razlučivanje pravih patogena u urinu od kontaminirajućih bakterija. Termin značajne bakteriurije uveden je 50-tih godina prošlog stoljeća sa željom da urin dobiven uzorkovanjem srednjeg mlaza urina bude usporediv s uzorkom dobivenim suprapubičnom punkcijom kojom se izbjegava kontaminacija urina periuretralnom mikrobiotom. Tada određena granica od $\geq 10^5$ CFU/mL se s vremenom spuštala i prilagođavala različitim kliničkim slikama IMS, no potrebno je imati na umu da uz niže granične vrijednosti značajne bakteriurije ide veća osjetljivost bakteriološkog testiranja urina, ali i niža specifičnost tj. veća mogućnost da izolirani mikroorganizmi predstavljaju kontaminaciju. Ove smjernice imaju za cilj racionalizirati i optimizirati laboratorijsku obradu različitih uzoraka urina, no konačna interpretacija pozitivnog nalaza urina moguća je jedino uz poznavanje kliničke slike. Srećom, klinička slika IMS često je jasna i bakteriološki nalazi pružaju nedvojbeni putokaz u primjeni antibiotske terapije. Uzorci urina se, međutim, često nepotrebno uzimaju i u odsutnosti simptoma IMS. S izuzetkom trudnica i osoba koje se spremaju na urološki zahvat, uzorci urina uzeti u asimptomatskim fazama često stvaraju nepotrebne dileme u liječenju bolesnika, potencirane nemogućnošću jasnog razlikovanja uropatogena od kontaminirajućih bakterija na laboratorijskoj razini.

Česti uzročnici infekcija muškog i ženskog spolnog sustava teško su uzgojive bakterije te je dijagnostika usmjerena na molekularne metode koje postaju sve pristupačnije u mikrobiološkim laboratorijima. Cilj je ovih smjernica racionalizirati i optimizirati uporabu molekularne dijagnostike te interpretaciju nalaza bakteriološke kultivacije.

Dok je prostatitis usko vezan uz dijagnostiku IMS kod muškaraca, dijagnostika uretritisa prvenstveno je usmjerena na teško uzgojive uzročnike. S obzirom da simptomi prostatitisa i kronične zdjelčne boli često imaju nebakterijski uzrok, neracionalno izdavanje nalaza bakterija poraslih u neadekvatnim uzorcima često može krivo usmjeriti liječenje bolesnika. Ove smjernice potiču uzimanje kvalitetnih uzoraka i obradu jasnih patogena kod dobro definiranih kliničkih indikacija, uz nadu da će se obrada ejakulata, kao lakše dostupnog uzorka, i nalaz često kolonizirajućih bakterija ograničiti na pojedine pacijente i individualnu interpretaciju nalaza.

Kod obrade uzoraka iz spolnog sustava žena potrebno je razlikovati mikroorganizme koji se ne nalaze normalno u genitalnom traktu i čija je izolacija obično povezana s bolešću (*Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis* te gljive *Candida* spp. i parazit *Trichomonas vaginalis*) od bakterija koje se u genitalnom traktu mogu naći kao dio fiziološke ili kolonizirajuće mikrobiote, ali u određenim kliničkim indikacijama mogu predstavljati uzročnike infekcije. Dobra suradnja kliničara i mikrobiologa, poznavanje indikacije za uzimanje pojedinog uzorka omogućuje racionalnu obradu uzoraka ženskog spolnog sustava. Nepoznavanje indikacije vodi do široke obrade mogućih uzročnika, neracionalne dijagnostike, a često i posljedično neracionalnog liječenja pacijentica.

U izradi smjernica sudjelovali su vrhunski hrvatski stručnjaci, a tijekom faze predavljanja i pilotiranja smjernica pristigli su dragocjeni komentari mnogih koji se u Hrvatskoj bave dijagnostikom infekcija mokraćnog i spolnog sustava. Gdjegod je to bilo moguće, a posebno u navodima oko kojih su tijekom predavljanja vladala različita mišljenja, tekst je potkrepljen međunarodnim referencama. Nadamo se, stoga, kako će ove smjernice biti dobrodošao i koristan naputak za rad u rutini.

Prof.dr.sc. Arjana Tambić Andrašević
Predsjednica HDKM-a

1. INFEKCIJE MOKRAČNOG SUSTAVA (IMS)

1.1. UVOD

Infekcije mokraćnog sustava (IMS) najčešći su oblik bolničkih infekcija te drugi najčešći tip infekcija koji se javlja u izvanbolničkoj populaciji (odmah iza respiratornih infekcija). Ove infekcije nastaju kao posljedica prisutnosti i umnožavanja mikroorganizama u različitim dijelovima mokraćnog sustava što rezultira invazijom u pridružena tkiva, upalnim odgovorom i simptomima koji mogu varirati ovisno o lokalizaciji infekcije (1,2).

Urin je primarno sterilna tjelesna tekućina, no izuzetno se lako kontaminira mikroorganizmima perineuma, uretre ili rodnice. Veliki broj bakterija ($>10^5$ „colony forming units“, CFU) u ml urina povezan je s akutnim infekcijama mokraćnog sustava, dok manji broj bakterija u urinu obično predstavlja kontaminaciju periuretralnog mikrobiotom. Stoga je urinokultura uvijek popraćena određivanjem broja bakterija u ml urina. Razlikovanje između kontaminacije i prave bakteriurije na osnovi broja bakterija u urinu mora uvijek biti popraćeno kliničkim prosuđivanjem, budući da broj bakterija u urinu predstavlja samo određeni stupanj vjerojatnosti kako određeni broj bakterija predstavlja bakteriuriju, a ne kontaminaciju (1,2).

Iako je uzorkovanje urina obično neinvazivan postupak a obrada urina među najčešće izvođenim postupcima u mikrobiološkom laboratoriju, dijagnostika IMS nije uvijek jednostavna. Da bi rezultati obrade urina imali pravo kliničko značenje u postavljanju etiološke dijagnoze IMS, važno je da se cijeli postupak napravi u skladu s dobrom laboratorijskom praksom. Preduvjet za to je da mikrobiolozi pruže detaljne upute o uzorkovanju, pohrani, transportu i analizi urina (2,3).

1.2. ČIMBENICI RIZIKA ZA NASTANAK IMS

U normalnim uvjetima, zaštitu od infekcije u mokraćnom sustavu pruža neometano otjecanje urina i redovito pražnjenje mokraćnog mjehura. Osim toga, urin je previše kiseo i osmolalan da bi bio pogodan medij za razmnožavanje bakterija. Urin sadrži i inhibitore koji ometaju bakterijsku adherenciju. Od ostalih prirodno prisutnih čimbenika koji su važni u sprječavanju nastanka infekcija mokraćnog sustava važno je istaknuti lokalnu produkciju IgA protutijela na sluznici, sekreciju citokina i kemokina te, u muškaraca, antibakterijsko djelovanje sekreta prostate (sadrži cink) te dužu uretru.

Čimbenici rizika za nastanak IMS su (1,3):

1. spol (žene imaju kraću uretru)
2. dob
3. prisutnost katetera
4. trudnoća
5. vezikoureteralni refluks i druge funkcionalne ili anatomske abnormalnosti mokraćnog sustava (hipertrofija prostate, neurogeni mokraćni mjehur, kamenci, tumori)
6. urinarna i fekalna inkontinencija
7. dijabetes
8. imunosupresija
9. bolničko liječenje
10. transplantacija bubrega
11. genetski čimbenici

1.3. PATOGENEZA IMS

IMS u izvanbolničkoj populaciji

IMS u izvanbolničkih bolesnika najčešće je posljedica ascendentnog ulaska u mokraćni mjehur njihovih vlastitih bakterija koje su prethodno kolonizirale distalnu uretru ili introitus rodnice. Fimbrije bakterijama omogućavaju prijanjanje na stanice uroepitela i penetraciju te stvaranje biofilma. Nakon toga, bakterije mogu ascendentnim putem doseći i bubrežni parenhim te uzrokovati pijelonefritis. IMS može nastati i hematogenim širenjem bakterija ili direktnim širenjem iz crijeva u slučaju formiranja fistule zbog bolesti probavnog sustava.

IMS u bolničkoj populaciji

IMS u bolničkoj populaciji najčešće je posljedica kateterizacije, a uzročnici infekcije su bakterije bolesnikove perigenitalne mikrobiote ili bakterije s ruku zdravstvenog osoblja. Te bakterije dopijevaju u mokraćni mjehur tijekom kateterizacije ili periuretralnim ili transluminalnim putem.

1.4. UČESTALOST IMS

Učestalost IMS ovisi o dobi, spolu i prisutnosti navedenih čimbenika rizika. U djece se najčešće javlja u dječaka u dobi do 3 mjeseca koji imaju kongenitalne anomalije mokraćnog sustava. U odrasloj populaciji, IMS se najčešće javljaju u mladih žena, dok se u muškaraca javljaju u slučaju abnormalnosti u mokraćnom sustavu. Kod osoba starije životne dobi, učestalost IMS raste u oba spola.

1.5. TERMINI I DEFINICIJE

Tablica 1. Termini i definicije koji se odnose na IMS

TERMIN	DEFINICIJA
Akutni uretralni sindrom	Simptomi akutnog zbivanja u donjem mokraćnom sustavu žena s malim brojem bakterija u urinu ili bez prisutnih bakterija
Bakteriurija	Prisutnost bakterija u urinu (pacijent može i ne mora imati simptome IMS)
Piurija	Prisutnost leukocita u urinu
Urosepsa	IMS s bakterijemijom
Nekomplicirana IMS	IMS u bolesnika s anatomske i funkcionalno normalnim mokraćnim sustavom
Komplicirana IMS	IMS u bolesnika s funkcionalnim anomalijama ili drugim poremećajima koji olakšavaju nastanak infekcije i smanjuju učinkovitost antimikrobne terapije
Asimptomatska bakteriurija	Prisutnost $>10^5$ bakterija/ml urina, bez simptoma infekcije

1.6. KLASIFIKACIJA IMS

Prema ISKRA smjericama, u skladu s IDSA (Infectious Diseases Society of America) i ESCMID (European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases), IMS se dijele na (2,4):

1. akutni nekomplicirani cistitis u žena u premenopauzi koje nisu trudne
2. akutni nekomplicirani pijelonefritis
3. komplicirane IMS (uključujući i sve IMS u muškaraca)
4. asimptomatska bakteriurija
5. rekurentne IMS (nekomplicirane, bez predisponirajućih čimbenika)

Pristup laboratorijskoj dijagnostici različit je za pojedine kategorije IMS (tablica 2.).

Tablica 2. Dijagnostički postupnik ovisno o kategoriji IMS

Kategorija IMS	Test leukocitne esteraze (≥ 10 leukocita/mm ³) i test nitrita	Urinokultura	Značajan broj bakterija u urinu (CFU/ml)
Akutni nekomplicirani cistitis	DA	NE	
Akutni nekomplicirani pijelonefritis	DA	DA	$\geq 10^4$
Komplicirane IMS	DA	DA	Za žene: $\geq 10^5$ ili $\geq 10^4$ za uzorak urina dobiven iz trajnog katetera Za trudnice: $\geq 10^3$ Za muškarce: $\geq 10^4$
Asimptomatska bakteriurija	DA	DA	Za žene: $\geq 10^5$ bakterija/ml istog bakterijskog soja u dvije uzastopne urinokulture srednjeg mlaza urina uzete u razmaku ≥ 24 sata Za muškarce: $\geq 10^5$ bakterija/ml u jednoj kulturi srednjeg mlaza urina Za žene i muškarce: $\geq 10^2$ bakterija/ml u jednom uzorku urina koji je dobiven jednokratnom kateterizacijom (21)
Rekurentne IMS	DA	DA	Nekomplicirani cistitis: $\geq 10^3$ Nekomplicirani pijelonefritis: $\geq 10^4$

1.7. UZROČNICI INFEKCIJA MOKRAČNOG SUSTAVA

Iako skoro svaka bakterija može uzrokovati uroinfekciju, a isti mikroorganizmi koji uzrokuju infekcije mokraćnog sustava ujedno nastanjuju periuretralno područje kao fiziološka mikrobiota, među uzročnicima infekcija ipak razlikujemo primarne, sekundarne i dvojbene patogene te uzročnike koji pretežno predstavljaju fiziološku mikrobiotu i vrlo rijetko uzrokuju infekcije (tablica 3.) (19). S obzirom da zadnjih godina *A. baumannii* pokazuje veću virulenciju radna grupa je u ovim smjernicama *A. baumannii* uvrstila u skupinu sekundarnih patogena (tablica 3).

Tablica 3. Stupanj patogenosti i učestalost mikroorganizama u etiologiji IMS

Patogenost u mokraćnom sustavu	A. Česti (>10%)	B. Prilično česti (1-10%)	C. Nisu česti (0,1-1%)	D. Rijetki (<0,1%)
I. Primarni patogeni	<i>E. coli</i>	<i>S. saprophyticus</i>		<i>E. coli</i> ovisna o CO ₂ , <i>Salmonella</i> spp.,* (<i>Leptospira</i> ,** <i>Mycobacteriaceae</i> **)
II. Sekundarni patogeni		<i>Enterobacter</i> spp., <i>Enterococcus</i> spp., <i>Klebsiella</i> spp., <i>P. mirabilis</i> , <i>P. aeruginosa</i> <i>A. baumannii</i>	<i>Citrobacter</i> spp., <i>M. morgani</i> , <i>P. vulgaris</i> , <i>Serratia</i> spp., <i>S. aureus</i>	<i>C. urealyticum</i> , <i>C. seminalae</i> , <i>Haemophilus</i> spp.,*** Pneumokoki***
III. Patogeni dvojnog značaja		<i>S. agalactiae</i> , kvasci, drugi KNS****	<i>Acinetobacter</i> spp., <i>Pseudomonas</i> spp., <i>S. maltophilia</i> , <i>B. cepacia</i>	Mikroorganizmi opisani kao rijetki uzročnici u pojedinim publikacijama*****
IV. Urogenitalna mikrobiota		α –hemolitični streptokoki, <i>G. vaginalis</i> , laktobacili	<i>Bifidobacterium</i> spp., „difteroidi“	

KNS= koagulaza negativni stafilocoki

* Izvještavaju se i niske koncentracije, čak i ako su posljedica kontaminacije uzorka

** Dijagnostika nije obuhvaćena ovim smjernicama

*** Najčešće izolirani u djece

**** Koagulaza negativni stafilocoki osim *S. saprophyticus*

*****npr. *Aerococcus urinae*

E. coli i *S. saprophyticus* su primarni patogeni koji uzrokuju > 80% nekomplikiranih IMS u osoba s normalnim mokraćnim sustavom. Značajni su ako su izolirani u broju $\geq 10^3$ CFU/ml. Sekundarni patogeni su rijetko kada uzročnici nekomplikiranih infekcija mokraćnog sustava, ali su često uzrok kompliciranih i IMS dobivenih za vrijeme zdravstvene skrbi. Treća i četvrta skupina odnosi se na dvojbene patogene i urogenitalnu mikrobiotu. Neke Gram pozitivne (*S. agalactiae*, *Aerococcus urinae*, koagulaza negativni stafilocoki osim *S. saprophyticus*) i neke Gram negativne nefermentativne (*Pseudomonas* spp. osim *P. aeruginosa*, *Acinetobacter* spp. osim *A. baumannii*, *Burkholderia cepacia*) bakterije, te *Candida* spp. smatraju se potencijalno značajnim ako su prisutne u velikom broju i u ponovljenom uzorku. Izolacija *S. agalactiae* iz urina trudnica ima jednaku vrijednost kao i screening (obrisak rodnice, rektuma i perineuma). *S. agalactiae* je značajan uzročnik IMS u dijabetičara. *Candida* spp. se najčešće nađe u uzorcima kateteriziranih bolesnika, te onih koji su imali invazivni zahvat u mokraćnom sustavu ili primaju antimikrobnu terapiju. Izolacija *Candida* spp. iz urina u novorođenčadi vrlo niske porođajne težine (< 1000 g) je značajno bez obzira na broj i predstavlja indikaciju za evaluaciju u smislu postojanja diseminirane kandidijaze i započinjanja antifungalne terapije (44). Prisutnost bakterija iz četvrte skupine, uz prisutnost epitelnih stanica u mikroskopskom preparatu, sasvim sigurno je znak kontaminacije pri uzorkovanju. Ove bakterije, kao i koagulaza negativni stafilocoki, mogu se smatrati uzročnicima jedino ako su prisutni u uzorku koji je uzet suprapubičnom aspiracijom ili ako su i u ponovljenom uzorku nađene u velikom broju te ako pritom uzorak nije kontaminiran drugom florom urogenitalnog sustava. Njihovu kliničku važnost potrebno je razmotriti s kliničarem.

1.8. INDIKACIJE ZA URINOKULTURU

A) U simptomatskih bolesnika

Urinokulturu **ne treba** raditi:

- ako se radi o akutnom nekomplikiranom cistitisu u žena starijih od 15 godina koje nisu trudne

Urinokulturu **treba uvijek** raditi:

- kod IMS u djece
- kod IMS u muškaraca
- kod IMS u osoba koje imaju čimbenike rizika za nastanak komplikacija (trudnice, dijabetičari i bolesnici s drugim kroničnim bolestima, imunosuprimirani, osobe s anomalijom urotrakta)
- kada se ne može isključiti pijelonefritis
- kada je antimikrobna terapija bila neuspješna

B) U asimptomatskih osoba

U asimptomatskih osoba u pravilu ne treba uzimati urinokulturu. Asimptomatsku bakteriuriju (AB) potrebno je tražiti i liječiti samo u određenih pacijenata i to:

- trudnica
- pacijenata kojima je potrebno napraviti urogenitalni zahvat
- žena, 48 h nakon odstranjenja trajnog „short-term“ katetera (< 30 dana) (21)
- bolesnika kojima je transplantiran bubreg ili neki drugi solidni organ (ne postoje jasni stavovi treba li se AB tražiti u ovih pacijenata) (21).

U febrilnih simptomatskih bolesnika potrebno je uzeti i hemokulture.

1.9. PREDANALITIČKA FAZA ISPITIVANJA

1.9.1. Uzimanje uzoraka urina

Broj i učestalost uzimanja uzoraka urina ovisi o kliničkom stanju bolesnika. **Najčešće je jedan pravilno uzet uzorak urina u simptomatskih bolesnika dovoljan za postavljanje dijagnoze!** Nepravilno uzorkovanje, pohrana i transport urina mogu utjecati na stupanj bakteriurije (kandidurije, leukociturije) (1-3).

Na način uzorkovanja urina utječu sljedeći čimbenici:

- dob
- spol
- trudnoća
- anatomske i funkcionalne anomalije urotrakta
- neurološki poremećaji
- kronične bolesti urotrakta
- nedavna operacija (hospitalizacija)

Uzorkovanje urina, transport i analiza moraju biti u skladu s dobrom laboratorijskom praksom, pri čemu treba koristiti materijale i medicinski pribor za *in vitro* dijagnostiku s CE [(Conformité Européenne (europske sukladnosti)] oznakom. Za uzorak treba koristiti sterilnu nepropusnu posudicu a pri uzorkovanju je otrebno primijeniti aseptičnu tehniku.

Urin je potrebno uzorkovati, kad god je to moguće **prije** početka antimikrobne terapije. Najčešće **vrste uzoraka urina** i način njihovog uzorkovanja su navedeni u Tablici 4.

Tablica 4. Načini uzorkovanja različitih uzoraka urina

Vrsta uzorka urina	Način uzorkovanja	Napomena
Urin dobiven metodom srednjeg mlaza	<ul style="list-style-type: none"> o uzorak uzeti najmanje 4 sata nakon zadnjeg mokrenja o oprati ruke o <u>u žena</u>: oprati vodom vanjsko ušće uretre i područje vulve, u smjeru od sprijeda prema natrag u jednom navratu (pomoću pamučne maramice ili gaze namočene u sterilnu fiziološku otopinu) o <u>u muškaraca</u>: oprati vodom glans i vanjsko ušće uretre o ne brisati se ručnikom o ispustiti prvi mlaz (oko 20 ml urina) o sakupiti sljedećih 20-30 ml (maksimalno) u sterilnu posudicu pazeći da se ne dodiruje rub o čvrsto zatvoriti posudicu i očistiti vanjski dio o oprati ruke još jednom o označiti posudicu (navesti ime i prezime bolesnika) o navesti točno vrijeme uzorkovanja o uzorak odmah poslati u laboratorij s uputnicom 	<ul style="list-style-type: none"> o preporučena metoda o otvor uretre ne smije nikako doći u kontakt s dezinficijensom (npr. benzalkonij, heksaklorofen) jer je dovoljna jedna kapljica da urin postane sterilan o nikada ne uzimati uzorak urina iz noćne posude ili „guske“! o uputnica treba biti točno i u potpunosti ispunjena – to vrijedi za sve vrste uzoraka urina
Urin uzet jednokratnom kateterizacijom („in and out“)	<ul style="list-style-type: none"> o oprati vanjsko ušće uretre vodom i postaviti kateter o ispustiti prvih 15-30 ml urina o sljedeći mlaz urina prikupiti u sterilnu posudicu 	<ul style="list-style-type: none"> o uzima se kada bolesnik ne može uzeti uzorak metodom srednjeg mlaza

Vrsta uzorka urina	Način uzorkovanja	Napomena
Urin iz trajnog katetera	<ul style="list-style-type: none"> o provjeriti ima li dovoljno urina u cijevi katetera (10 ml) ako nema, stisnuti cijev katetera kroz 10-15 minuta o potreban pribor za uzorkovanje: rukavice, igla i šprica od 10-15 ml, jastučić za brisanje namočen alkoholom, sterilna posudica za urin o dezinficirati mjesto uzimanja uzorka 70%-tnim alkoholom o iglom i špricom aspirirati 10 ml urina o prebaciti urin u sterilnu posudu, označiti je i pripremiti za transport o upotrijebljenu iglu i špricu odložiti u odgovarajući spremnik 	<ul style="list-style-type: none"> o nikad ne uzimati urin iz vrećice za sakupljanje urina! Najbolje je na ovaj način uzeti urin kada se kateter mijenja – iz novopostavljenog katetera jer se tada dobiju mikroorganizmi prisutni u mjehuru a ne oni na unutarnjem zidu katetera
Urin dobiven cistoskopijom	<ul style="list-style-type: none"> o urin se uzima korištenjem cistoskopa 	
Urin iz urostome	<ul style="list-style-type: none"> o ukloniti vrećicu o prebrisati područje oko stome antiseptikom za kožu o jednokratnim kateterom ili direktno u sterilnu posudicu prikupiti urin iz stome (46) 	
Urin dobiven suprapubičnom punkcijom	<ul style="list-style-type: none"> o odstraniti dlake (ako su prisutne), najbolje, ako je moguće, pomoću „clippera“, dezinficirati kožu 70%-tnim alkoholom (prebrisati područje kože dva puta) o aspirirati urin direktno iz mjehura 	<ul style="list-style-type: none"> o mjehur treba biti pun i palpabilan prije aspiracije o metoda koja se preferira: u male djece, kada je teško interpretirati rezultate analize izmokrenog urina, kada se sumnja na anaerobnu IMS
Urin inkontinentnih osoba	<ul style="list-style-type: none"> o u žena: <ul style="list-style-type: none"> - uzeti uzorak nakon pažljivog čišćenja genitalnog područja ili - kateterizirati, ako je prethodni postupak neizvediv o muškaraca: <ul style="list-style-type: none"> - sakupiti urin u čistu vrećicu za vanjsko spolovilo - izbjegavati kateterizaciju 	

Uzimanje uzoraka urina u dojenčadi i male djece		
Urin dobiven hvatanjem srednjeg mlaza urina	<ul style="list-style-type: none"> o oprati vodom vanjsko spolovilo o sterilnu posudu podmetnuti pod dijete ili, ako je dijete naviklo na kahlicu, posudicu umetnuti u kahlicu o po mogućnosti uzeti srednji mlaz o urin iz sterilne posude iglom i špricom prenijeti u sterilnu posudu za transport 	<ul style="list-style-type: none"> o to je preporučena metoda koja se mora pokušati u svih pacijenata o uzorak je najbolje pokušati uzeti: <ul style="list-style-type: none"> - nakon davanja tekućine (bočice) - kod mijenjanja pelene - pri kupanju - pri vaganju o ako uzorak nije moguće uzeti na ovaj način, može se pokušati uzeti pomoću uloška ili invazivnim metodama (kateterizacijom ili suprapubičnom aspiracijom)

Urin uzet pomoću uložka	<ul style="list-style-type: none"> o oprati pažljivo područje koje prekriva pelena o staviti uložak s unutarnje strane pelene o čim je uložak namočen urinom, pomoću igle aspirirati urin i prebaciti ga u sterilnu posudicu 	<ul style="list-style-type: none"> o ne držati uložak duže od 30 min
Urin dobiven pomoću vrećice	<ul style="list-style-type: none"> o oprati genitalno područje i pustiti da se osuši o ne brisati nakon pranja! o staviti sterilnu vrećicu o sakupljeni urin preliti u sterilnu posudicu 	<ul style="list-style-type: none"> o <u>nije preporučljiva metoda</u> zbog velike mogućnosti kontaminacije o vrećica se ne bi smjela držati duže od 1 sat. Ako se ne dobije urin u vremenu od 1 sata, vrećicu treba zamijeniti novom. Negativan rezultat je klinički relevantan. Pozitivan rezultat treba provjeriti suprapubičnom aspiracijom ili kateterizacijom.

1.9.2. Pohrana i transport urina

U svrhu izolacije bakterijskih uzročnika potrebno je uzeti minimalno 1 ml urina. **Ne pohranjivati urin na sobnoj temperaturi!** Ako transport urina u laboratorij nije moguć unutar 2 sata od uzimanja, potrebno ga je pohraniti **u hladnjaku pri +4 °C**. Urin za kultivaciju niti u hladnjaku **ne držati duže od 24 sata**.

U svrhu određivanja staničnih elemenata (mikroskopiranjem ili alternativnim metodama v.p.1.10.1.), urin na temperaturi hladnjaka može biti pohranjen maksimalno 8 h (45).

Urin je potrebno transportirati u sterilnoj bočici zatvorenoj u plastičnoj vrećici. Pri duljem transportu potrebno ga je transportirati u hladnjaku.

1.9.3. Kriteriji za odbacivanje uzoraka

U svrhu postavljanja dijagnoze infekcije mokraćnog sustava, potrebno je odbaciti sljedeće uzorke:

- drugi uzorak urina koji je prikupljen na isti način unutar 48 h od uzimanja 1. uzorka, osim kada se traži asimptomatska bakteriurija u žena (v. poglavlje 1.8.)
- 24-satni urin
- vrh katetera
- vrećicu, kada se radi o kateteriziranom bolesniku
- uzorak u oštećenoj posudici
- uzorak urina koji se šalje na anaerobnu obradu, a nije uzorkovan suprapubičnom punkcijom

Ako nepravilno prikupljen, transportiran ili pohranjen uzorak nije moguće zamijeniti novim, ponovljenim uzorkom, uzorak je potrebno obraditi, ali je, jednako tako, u nalazu potrebno naznačiti kako je zbog tih razloga rezultat pretrage nepouzdan.

1.10. ANALITIČKA FAZA (LABORATORIJSKO ISPITIVANJE)

Posudicu s urinom, na kojoj je napisano ime i prezime bolesnika, potrebno je označiti laboratorijskim brojem po primitku u laboratorij.

Laboratorijsko (mikrobiološko) ispitivanje uzorka urina uključuje **mikroskopiranje** (ili alternativne metode za određivanje staničnih elemenata) i **kvantitativnu kultivaciju** (i/ili alternativnu nekultivacijsku metodu). Uzorci se obrađuju u laboratoriju 2. biozaštitne razine. Iznimno, pri sumnji na infekciju uzrokovanu bakterijama *Mycobacterium* spp. (izolacija mikobakterija nije obuhvaćena ovim smjericama), *Salmonella* Typhi, *Salmonella* Paratyphi A, B, C, uzorci se obrađuju u laboratoriju 3. biozaštitne razine.

1.10.1. Mikroskopiranje i alternativne metode za određivanje staničnih elemenata

Mikroskopiranje urina ili neka od alternativnih metoda za određivanje staničnih elemenata u urinu preporučuje se za uzorke svih simptomatskih bolesnika kao pomoć pri interpretaciji rezultata kulture, dijagnostici IMS, procjeni kvalitete uzorka i usmjeravanju daljnje dijagnostičke obrade.

Signifikantnom piurijom se smatra nalaz $>10^4$ leukocita (L)/ml urina, što odgovara > 10 L/ μ l, odnosno > 5 L po vidnom polju (procijenjeno mikroskopiranjem 10 vidnih polja) pod velikim povećanjem (400x) necentrifugiranog urina. Piurija je prisutna u 96 % simptomatskih bolesnika s bakteriurijom od 10^5 CFU/ml, a u <1 % asimptomatskih bolesnika koji nemaju bakteriuriju. Prisutnost piurije uz asimptomatsku bakteriuriju nije indikacija za primjenu antimikrobne terapije. Izostanak leukociturije ima dobru negativnu prediktivnu vrijednost (80-90%) za isključivanje IMS u nekateteriziranih bolesnika. Leukociturija može izostati u IMS, ako je analiza uzorka napravljena prerano (u prvim satima infekcije) ili ako se radi o neutropeničnom bolesniku. Sterilna piurija (signifikantna piurija uz sterilnu urinokulturu) može biti prisutna zbog prethodne terapije antibioticima, kateterizacije, kamenaca, stranog tijela, akutnog uretralnog sindroma, neoplazme mjehura, infekcije spolnog sustava, spolno prenosive infekcije (npr. *C. trachomatis*), tuberkuloze te anaerobne IMS. Prisutnost *Proteus* spp. u urinu povećava pH urina i uzrokuje lizu leukocita.

Hematurija je prisutna u 40-60 % slučajeva akutnog cistitisa, renalne tuberkuloze i neinfektivnih bolesti bubrega.

Skvamozne epitelne stanice su koristan indikator kontaminacije uzorka florom rodnice i distalne uretre.

Paraziti (npr. *T. vaginalis*) i **gljive** (*Candida* spp.) se mogu naći mikroskopskim pregledom i o tome se izvještava se u nalazu.

U svrhu određivanja staničnih elemenata u urinu, primjenjuje se više metoda. Pri odabiru metode bitno je procijeniti koja je metoda primjenjiva u nekom laboratoriju, za koje bolesnike i uzorke te koje su prednosti i ograničenja izabranih metoda, što je nužno navesti u lokalnom laboratorijskom protokolu.

- **Mikroskopiranje necentrifugiranog urina** (pod povećanjem od 400x) može se raditi na dva načina koja se preporučuju za rutinski rad:
 - **Mikroskopiranje s invertnim mikroskopom** - koristi se mikrotitarska pločica (96 jažica) s ravnim dnom u koje se dodaje ≈ 60 μ l necentrifugiranog urina, prebroje se leukociti i eritrociti i njihov broj preračuna pomoću faktora korekcije koji se temelji na volumenu urina, promjeru jažice i promjeru vidnog polja. Vrijednost se izražava kao broj L (E) u μ l ili broj L (E) po vidnom polju. Signifikantnom piurijom se smatra nalaz >10 L/ μ l, odnosno >5 L po vidnom polju.
 - **Mikroskopiranje u komorici** - može se koristiti jednokratno predmetno stakalce s 10 komorica s mrežicom (9x9=36 kvadratića) unutar koje se broje E i L, vrijednost se izražava kao broj L (E) u μ l. Signifikantnom piurijom se smatra nalaz >10 L/ μ l (3).

Mikroskopiranje necentrifugiranog, neobojenog urina nije pouzdano u svrhu detekcije bakteriurije u broju ≤ 104 CFU/ml. Osjetljivost metode se povećava centrifugiranjem i bojenjem po Gramu (2).

- **Mikroskopiranje necentrifugiranog urina bojenog po Gramu** radi se u specifičnim kliničkim situacijama na zahtjev ili kada mikrobiolog procijeni da je to potrebno. Gram preparat pomaže usmjeravanju dijagnostičkog pristupa (izbor podloge i/ili specifičnih uvjeta inkubacije). Pomoću njega se određuje vrsta i broj mikroorganizama (1 mikroorganizam u vidnom polju pri povećanju od 1 000x odgovara broju od $\geq 10^5$ CFU/ml) i somatskih stanica (leukociti, skvamozne epitelne stanice).
- **Mikroskopiranje centrifugiranog urina** i procjenu broja staničnih elemenata (L, E) po vidnom polju (pod povećanjem od 400x) neki autori smatraju nereproducibilnom, semikvantitativnom metodom koja se ne bi trebala koristiti za procjenu prisutnosti i stupnja leukociturije (2). Veliki broj drugih autora mikroskopsku analizu staničnih elemenata u sedimentu centrifugiranog urina smatra legitimnom metodom a u mnogim biokemijskim laboratorijima je ona akreditirana. U standardiziranom postupku, određeni volumen urina (za odrasle 10-15 ml, za djecu 5 ml) se centrifugira 5 min/400 g (relativna centrifugalna sila) ili 5 min/1500-2000 rpm (okretaja u minuti), potom se kap sedimenta gleda pod povećanjem od 400x, pretraži se najmanje 10 vidnih polja te se u nalazu izdaje prosječan broj L/E po vidnom polju. Signifikantna piurija je prisutna kada se nađe > 5 L po vidnom polju (pod povećanjem od 400x) (32,38).
- **Automatizirana metoda za određivanje staničnih elemenata** se izvodi pomoću automatskog mikroskopskog analizatora (mikroskop, digitalna kamera i protočna stanica). Digitalna kamera snima 500 polja svakog uzorka necentrifugiranog urina, pri čemu se prepoznaju čestice veće od 3 μ i svrstavaju u 12 kategorija (eritrociti, leukociti, stanice pločastog epitela i dr.). Rezultati se iskazuju brojem staničnih elemenata u μ l ili po vidnom polju (39). Signifikantnom piurijom se smatra nalaz >10 L/ μ l, odnosno >5 L po vidnom polju.
- **Dipstick test leukocitne esteraze i nitrita** primjenjuje se za testiranje svježeg izmokrenog urina imunokompetentnih bolesnika.

Testom nitrita određuje se aktivnost nitratne reduktaze pomoću koje se otkriva bakteriurija u broju od $\geq 10^5$ CFU/ml urina. Ograničenje testa: bakteriurija $\leq 10^4$ CFU/ml (niski nitriti), prisutnost uropatogena koji ne reduciraju nitrate u nitrite (*S. saprophyticus*, *Enterococcus* spp., *A. bumannii*, *Candida* spp., *pseudomonas*), lažno negativni rezultati kad je pH <6 , lažno pozitivni rezultati u bolesnika na vegetarijanskoj dijeti.

Test leukocitne esteraze je probirni test za piuriju tj. njime se otkriva aktivnost leukocitne esteraze prisutne u polimorfonuklearima i makrofagima čime se detektira 20-25 L/ μ l urina. Ograničenje testa: neutropenija, neinfektivne bolesti bubrega, prisutnost *acidi borici* i nekih antibiotika (nitrofurantoin, gentamicin) negativno utječe na leukocitnu esterazu. Dipstick test treba izbjegavati u kateteriziranih bolesnika (piurija, u slučaju prisustva mikroorganizama koji nemaju nitratnu reduktazu) i u bolesnika s neurogenim mjehurom (kronična piurija).

Oba testa se preporučuju kao pomoć pri postavljanju dijagnoze IMS i signifikantne piurije u žena s nekompliciranim akutnim cistitisom koje nisu trudne, a mlađe su od 65 godina (4).

1.10.2. Nekultivacijske metode dokazivanja bakteriurije

U nekim mikrobiološkim laboratorijima primjenjuju se brze automatizirane nekultivacijske metode (npr. laserska nefelometrija) u svrhu dokazivanja bakteriurije. Značajke tih metoda su kako slijedi:

- Mogu se primijenjavati u svrhu selekcije „negativnih“ uzoraka što omogućava ranije izvještavanje, odnosno brzo, u roku od 60 do 240 minuta, daju korisnu informaciju o prisutnosti mikroorganizama.
- Njihova prednost je reproducibilnost, brzina te automatski prijenos podataka u laboratorijski informacijski sustav.
- Nedostatak je što nisu dovoljno osjetljive u otkrivanju niskog stupnja bakteriurije koji može biti klinički značajan.

- Bez obzira na rezultat selekcije pozitivnih i negativnih uzoraka, **kultivacija se preporučuje u djece, trudnica, imunokompromitiranih bolesnika, u slučaju da je uzorak dobiven invazivnom metodom (suprapubična aspiracija, cistoskopija, jednokratna kateterizacija) i kada postoji zahtjev za novim, ponovljenim uzorkom.**
- U laboratorijima u kojima se koristi automatizirani sustav selekcije mikrobiolog mora uspostaviti lokalni laboratorijski protokol za odabir uzoraka za kulturu (2).

Uzorak urina se kultivira ako je broj mikroorganizama $\geq 10^4$ CFU/ml, a uzorci s $< 10^4$ CFU/ml se kultiviraju ako postoji indikacija prema lokalnim laboratorijskim protokolima (piurija, imunokompromitirani pacijenti, uzorci dobiveni invazivnim metodama kao što susuprapubična aspiracija, cistoskopija, jednokratna kateterizacija te kada se traži novi uzorak).

1.10.3. Nasađivanje i kultivacija uzoraka urina

1.10.3.1. Nasađivanje urina

Urin se uvijek nasađuje kvantitativno jer procjena broja bakterija u ml urina pomaže u razlikovanju značajne bakteriurije od kontaminacije urina periuretralnom mikrobiotom.

Odabir kalibrirane eze i podloge

Najjednostavnija metoda je nasađivanje urina kalibriranom ezom. Za rutinski rad se preporučuje korištenje eze od 1 ili 10 μ l.

Ezom od 10 μ l nasijava se 0,01 ml urina, pri čemu je prag detekcije mikroorganizama 10^2 CFU/ml, a maksimalno brojiv broj kolonija (100- 999 kolonija na ploči) odgovara broju od 10^4 CFU/ml. Presađivanje ezom od 1 μ l nasijava se 0,001 ml urina, pri čemu je prag detekcije mikroorganizama 10^3 CFU/ml, a maksimalno brojiv broj kolonija (100- 999 kolonija na ploči) odgovara broju od 10^5 CFU/ml (19).

Radna grupa daje prednost nasađivanju ezom od 1 μ l jer je na taj način moguće razlučivanje 10^5 CFU/ml od 10^4 CFU/ml. Za uzorke dobivene suprapubičnom aspiracijom, uzorke dobivene pri kirurškom zahvatu i sve druge kod kojih je i niska bakteriurija značajna, preporučuje se nasijavanje ezom od 10 ili 100 μ l (1,22).

Nema jedinstvene podloge koja omogućava kvantifikaciju i identifikaciju svih bakterija i gljiva koje mogu biti prisutne u urinu. Prilikom odabira podloge za kultivaciju važna je inhibicija puzanja *Proteus* spp. i prepoznavanje *E. coli* što omogućava npr. CLED („Cystine lactose electrolyte deficient“) agar. Kromogene podloge omogućavaju presumptivnu identifikaciju najčešćih uropatogena.

Tablica 5. Interpretacija broja poraslih kolonija na ploči pri nasađivanju kalibriranom ezom različite veličine

Broj kolonija na ploči uz odgovarajuću veličinu eze			Interpretacija broja bakterija u urinu (CFU/ml)
1 μ l	10 μ l	100 μ l	
-	1-9	10-99	10^2
1-9	10-99	100-999	10^3
10-99	100-999	1 000-9 999	10^4
≥ 100	$\geq 1 000$	$\geq 10 000$	$\geq 10^5$

Postupak nasađivanja urina:

- Sterilna eza se uranja vertikalno, ispod površine promiješanog, necentrifugiranog urina.
- Eza ispunjena urinom se prisloni na površinu ploče, pričekava se da se inokulum otpusti na podlogu te se urin nasije tehnikom koja nakon inkubacije omogućava brojanje poraslih kolonija te porast rubnih, pojedinačnih kolonija.

- Za ploču promjera 9 cm maksimalan broj uzoraka urina je:
 - o 4 uzorka (inokulum 1 µl),
 - o 2 uzorka (inokulum 10 µl),
 - o 1 uzorak (inokulum 100 µl)(1).
- Za ploču promjera 5,5 cm maksimalan broj uzoraka urina je:
 - o 2 uzorka (inokulum 1 µl),
 - o 1 uzorak (inokulum 10 µl) (1).
- Ako se uzorak urina nasijava na više podloga, za svaku novu ploču potrebna je nova eza.
- Nakon nasađivanja, urin se pohranjuje u hladnjaku pri 4°C do završetka pretrage (izdavanja nalaza).

1.10.3.2. Kultivacija uzoraka urina

Podloge i uvjeti inkubacije za kultivaciju urina opisani su u Tablici 6.

Tablica 6. Kultivacija uzoraka urina

Klinička slika / indikacija	Standardna podloga	Inkubacija			Traženi mikroorganizam*
		Temp. (°C)	Atmosfera	Vrijeme	
IMS**, Traženje asimptomatske bakteriurije u odabranih skupina bolesnika (v. pogl. 1.8.)	CLED ili kromogeni agar	35-37	aerobna	16-24 h (48 h)	enterobakterije, enterokoki, <i>S. agalactiae</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>S. saprophyticus</i> , drugi KNS, <i>S. aureus</i> , <i>Acinetobacter</i> spp.
U ovim slučajevima potrebno je dodati:					
Bolesnici iz JIL-a, Odjela za opekotine, Odjela za transplantaciju; kvasci nađeni mikroskopski	Sabouraud agar	35-37	aerobna	40-48 h	Kvasci
Kontrola prisutnosti antibiotika u urinu	Agar za testiranje osjetljivosti na antibiotike nasijan s <i>B.subtilis</i> NCTC 10400 ili <i>E. coli</i> ATCC 25922	35-37	aerobna	16-24	Antimikrobne tvari
Sterilna piurija, nije utvrđena antimikrobna tvar	Agar za anaerobe	35-37	anaerobna	40-48 h	Anaerobi***, streptokoki
	Čokoladni agar	35-37	5-10%CO ₂	40-48 h	Izbirljivi mikroorganizmi****
Radi se na zahtjev (u dogovoru s kliničarem ili ako je specifični uzročnik naznačen na uputnici).					
Crijevna vrućica, nadzor	Manitol selenit (MS) bujon (jednak volumen urina i MS bujona) supkultivacija na XLD	35-37	aerobno	16-24 h	<i>S. Typhi</i> <i>S. Paratyphy</i>

* Prisutni u broju koji je naveden u Tablici 7.

**IMS = Infekcija mokraćnog sustava.

***Na anaerobe se obrađuje samo uzorak koji je dobiven suprapubičnom punkcijom.

****Drugi mikroorganizmi za razmatranje: *C. trachomatis*, *Ureaplasma* spp., *Mycobacterium* spp., paraziti (*T. vaginalis*, *Schistosoma haematobium*, virusi (adenovirusi, BK virus); koji nisu obuhvaćeni kultivacijom na standardnim bakteriološkim podlogama.

Kontrola prisutnosti antimikrobnih tvari u urinu

- Uputno je, za svaki uzorak, urina provjeriti sadržava li antimikrobnu tvar koja ometa pretragu. To je pogotovo poželjno učiniti kada se ustanovi sterilna piurija.
- Na Mueller Hinton agar za ispitivanje osjetljivosti na antibiotike nasije se soj *B. subtilis* NCTC 10400 (ili *E. coli* ATCC 25922). Zatim se na agar stave diskovi filter papira koji su prethodno umočeni u uzorak urina (na jednoj ploči se može testirati više uzoraka urina).
- Agar se inkubira 16-24 h u aerobnim uvjetima pri 35-37 °C.
- Ako ispitivani uzorak urina sadrži antimikrobnu tvar koja difundira u bakteriološku podlogu inhibirat će porast *B. subtilis* (*E. coli*). Bilo koja zona inhibicije je pozitivan nalaz.

1.10.3.3. Očitavanje urinokulture

Prilikom očitavanja urinokulture važno je pridržavati se sljedećih osnovnih pravila:

- Urinokultura se očitava nakon inkubacije od **≥ 16 h**.
- Treba zasebno odrediti broj kolonija svakog morfotipa poraslog u kulturi.
- Ako je broj poraslih kolonija mikroorganizama urogenitalne i kožne mikrobiote barem **10 X** manji od broja kolonija uropatogena, fiziološku mikrobiotu treba zanemariti u daljnjem radu.
- Ako je broj urogenitalne i kožne mikrobiote i uropatogena podjednaka, urin se dalje ne obrađuje te se pretraga završava i izdaje nalaz: „uzorak kontaminiran“.
- Normalnu urogenitalnu mikrobiotu (tablica 3.) ne treba identificirati do razine vrste i ne treba izdavati u nalazu.
- Kada je izoliran *S. agalactiae*, porast u bilo kojem broju značajan je u trudnica i osoba koje pate od dijabetesa.
- *E. coli* uzrokuje oko 80% IMS i tada se mogu uključiti metode brze identifikacije („indole spot test“).
- **Urinokultura se reinkubira do 48 h u sljedećim situacijama:**
 - o Kada je uzorak dobiven invazivnom metodom (suprapubična aspiracija, jednokratna kateterizacija, cistoskopija).
 - o Pri oskudnom rastu kolonija.
 - o Kada rezultat urinokulture nije u korelaciji s kliničkom slikom (sterilna piurija ili simptomi IMS bez pozitivne urinokulture).
 - o Kada nalaz ne korelira s Gram preparatom (ako je napravljen).
 - o Kada se radi o uzorku imunokompromitiranih bolesnika ili onih s transplantacijom.
 - o Kada se traži izolacija gljiva ili su one prisutne u mikroskopskom preparatu.

Napomena: Kada se traži izolacija anaeroba, prikladan uzorak je samo onaj dobiven suprapubičnom aspiracijom.

Kvantifikacija bakteriurije

Pri očitavanju značajnog broja bakterija u urinu treba voditi računa o vrsti uzorka urina (pogl. 1.9.1.) i vrsti uzročnika (pogl. 1.7.).

Tablica 7. Prag značajne bakteriurije ovisno o vrsti uzročnika i vrsti uzorka u simptomatskih pacijenata (1,2,3,19).

Vrsta uzorka urina	Porast bakterija (broj vrsta/ količina)	Vrste uzročnika				
		Primarni patogeni	Sekundarni patogeni		Patogeni dvojbenog značaja	Urogenitalna mikrobiota
		<i>E.coli</i> <i>S.saprophyticus</i>	druge enterobakterije, enterokoki, <i>P.aeruginosa</i> , <i>A.baumannii</i> , <i>S.aureus</i>		<i>S.agalactiae</i> , kvasci, drugi KNS***, <i>Acinetobacter</i> spp., <i>S.maltophilia</i> , <i>Pseudomonas</i> spp.,	Viridans streptokoki, laktobacili, <i>G.vaginalis</i>
		Rijetko: <i>salmonelle*</i> , (leptospire**, mikobakterije**)	Rijetko: <i>C.urealyticum</i> , <i>C.seminatae</i> , <i>Haemophilus</i> spp., pneumokoki (u djece)		Rijetko: Razne vrste su opisane kao rijetki uzročnici uroinfekcija****	Rijetko: <i>Bifidobacterium</i> spp., difteroidi
Srednji mlaz urina ili urin dobiven hvatanjem čistog mlaza („clean catch“) ili vrećica / uložak	Broj vrsta	1-2	1	2	1	-
	CFU/ml	svaka vrsta $\geq 10^3$	$\geq 10^4$ ž / $\geq 10^3$ m	Svaka vrsta $\geq 10^5$	$\geq 10^5$	
	Ako je uzorak vrećica (ili uložak), potrebno je uzeti u obzir uzimanje novog uzorka jednokratnom kateterizacijom, suprapubičnom aspiracijom ili „clean catch“ urin.					
Suprapubična aspiracija	Broj vrsta	1-2 (3) ^A	1-2 (3) ^A		1-2 (3) ^A	1-2 (3) ^A
	CFU/ml	≥ 10	≥ 10		≥ 10	≥ 10
Jednokratna kateterizacija ili urin dobiven cistoskopijom	Broj vrsta	1-2 (3) ^A	1-2 (3) ^A		1-2 (3) ^A	-
	CFU/ml	$\geq 10^2$	$\geq 10^2$		$\geq 10^2$	
	A / Ako su prisutna 3 izolata obrađuje se samo 1 dominantni izolat (1).					
Urin iz trajnog urinarnog katetera	Broj vrsta	1-3 ^B	1-3 ^B		1-3 ^B	-
	CFU/ml	$\geq 10^4$	$\geq 10^4$		$\geq 10^4$	
	B/ Uzorkovanje i terapija se preporučuju samo u simptomatskih bolesnika.					
Urin iz ureterostome, Nefrostome	Broj vrsta	1-2	1-2		1-2	-
	CFU/ml	$\geq 10^3$	$\geq 10^3$		$\geq 10^3$	

* Izvještava se i mali broj, čak i ako je posljedica kontaminacije uzorka.

** Dijagnostika leptospira i mikobakterija nije obuhvaćena ovim smjernicama.

*** KNS, koagulaza negativni stafilokoki (osim *S. saprophyticus*) imaju značenje kada su u mokraćnom sustavu prisutni urinarni kateter ili drugi biomaterijal.

****Rijetki uzročnici, npr. *Aerococcus urinae*.

ž = žene, m = muškarci

1.10.3.4. Interpretacija urinokulture

Interpretacija porasta bakterija u urinu uvelike ovisi o vrsti uzorka, vrsti uzročnika te broju bakterija u ml urina (tablica 7.) no u konačnici ovisi o kliničkoj slici pacijenta (pogl. 1.6.).

Dok Tablica 7. pruža smjernice za rutinsko očitavanje urinokultura, u nekih pacijenata potreban je individualan pristup tumačenju nalaza. Načelno, broj mikroorganizama od $\geq 10^5$ CFU/ml u srednjem mlazu urina jako ukazuje na infekciju mokraćnog sustava, dok se broj od $< 10^3$ CFU/ml mikroorganizama u srednjem mlazu urina ne smatra značajnom ako bolesnik ne uzima antibiotike. Značajnost broja bakterija između ovih graničnih vrijednosti može se utvrđivati samo uz poznavanje kliničke slike (tablica 2.) i ako je uzorak kvalitetno uzet, a svi stadiji preanalitičke faze zadovoljavajuće provedeni.

U slučaju da u pojedinog pacijenta postoji neslaganje između kliničke slike i nalaza urinokulture, treba uzeti u obzir sljedeće uzroke smanjenog broja bakterija u urinu:

- a) u srednjem mlazu urina:
 - rana faza infekcije
 - povećana diureza
 - učestalo pražnjenje mokraćnog mjehura
 - prisutnost antibiotika u urinu
 - niski pH
 - spori rast bakterija
 - kontaminirani uzorak
- b) u urinu iz katetera:
 - medikacija
 - parenteralna prehrana
 - brzi prijenos urina iz mokraćnog mjehura

Prema razini leukociturije, prisutnosti epitelnih stanica te vrsti i broju izoliranog mikroorganizma može se procijeniti kvaliteta uzetog uzorka. U slučaju jasne kliničke slike i sumnje da je uzorak nekvalitetan, treba zatražiti novi uzorak.

Dijagnoza IMS se postavlja na osnovu kliničke slike, a glavna vrijednost urinokulture je omogućavanje identifikacije uzročnika i određivanje njihove osjetljivosti na antibiotike u slučajevima kad se pozitivna urinokultura smatra značajnom. Nalaz bakteriurije je vrlo čest u pacijenata s urinarnim kateterom no, taj nalaz je klinički značajan samo u prisutnosti simptoma IMS te epidemiološki u slučaju nalaza multiplorezistentnih bakterija. Ako nije poznata klinička slika pacijenta, uputno je – uz nalaz bakterija u urinu iz katetera – dodati komentar o nepotrebnosti primjene antimikrobne terapije u bolesnika bez simptoma IMS (v.1.12.).

1.11. IDENTIFIKACIJA PATOGENA I TESTIRANJE OSJETLJIVOSTI NA ANTIMIKROBNA SREDSTVA

- Postupci identifikacije ne razlikuju se od onih koji se primjenjuju u svrhu identifikacije izolata iz drugih uzoraka. Izvode se u skladu s laboratorijskim postupcima u svrhu identifikaciju mikroorganizama.
- Testiranje osjetljivosti na antibiotike izvodi se u skladu sa smjericama Odbora u svrhu praćena rezistencije bakterija na antibiotike Akademije medicinskih znanosti Hrvatske (AMZH) i smjericama EUCAST-a (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing).
- kvasci roda *Candida* se rutinski identificiraju do razine *Candida albicans/Candida nonalbicans*, a potrebu za identifikacijom do razine vrste i osjetljivošću na antifungike potrebno je procijeniti za pojedinačne bolesnike, u dogovoru s kliničarem.
- Neuobičajene izolate, mikroorganizme s neobičnom ili neočekivanom rezistencijom (npr. VRSA, KPC, NDM) potrebno je poslati u odgovarajući referentni laboratorij.

1.12. IZDAVANJE NALAZA URINOKULTURE

Mikroskopski nalaz:

- Prisutnost leukocita/eritrocita se izražava kao prosječan broj u jednom vidnom polju (pri povećanju od 400x) ili u 1 μ L.
- U nalazu treba naznačiti i prisutnost skvamoznih epitelnih stanica, gljiva, bakterija, parazita (*T. vaginalis*).

Automatizirana metoda selekcije bakteriurije:

- Ako je detektirani broj mikroorganizama ispod praga značajnosti, tj. $<10^4$ CFU/ml i urinokultura nije indicirana prema lokalnom laboratorijskom protokolu, nalaz je negativan i izdaje se kao: **urin sterilan / negativan.**
- Ako je urin negativan, nalaz treba biti dostupan u pisanom obliku za 16 – 24 h.
- Ako je broj mikroorganizama $\geq 10^4$ CFU/ml ili se uzorak s brojem od $<10^4$ CFU/ml kultivira prema lokalnom laboratorijskom protokolu, izdaje se nalaz s izoliranim uzročnikom i antibiogramom.

Urinokultura:

- Negativan nalaz:
 - o Urin sterilan/negativan.
 - o Izolirana je normalna urogenitalna mikrobiota.
- Pozitivan nalaz:
 - o Navesti naziv(e) i **broj** uropatogena izražen kao CFU/ml urina.
 - o Navesti **najviše dva uropatogena** s pripadajućim antibiogramom (1,2,23). Iznimno se za neke uzorke (trajni kateter) može izdati i tri uzročnika s antibiogramom u dogovoru s kliničarem (ako se radi o simptomatskom bolesniku).

U nekim posebnim situacijama može se izdati nalaz s izolatom, a bez antibiograma. Izolacija multiplo rezistentnog izolata (npr. MRSA, VRE) u broju koji nije značajan i ne ukazuje na infekciju te antimikrobna terapija nije potrebna, ali je saznanje o kolonizaciji takvim sojem važno zbog kontaktne izolacije i sprječavanja širenja takvih izolata.

- Dvojben nalaz urinokulture:
 - o Ako je broj urogenitalne i mikrobiote kože i uropatogena podjednaka pretraga se završava nalazom: „Uzorak kontaminiran urogenitalnom i mikrobiotom kože – u slučaju kliničke indikacije ponoviti uzorak uz pridržavanje uputa o pravilnom uzimanju, pohrani i transportu uzorka“.

U slučaju potrebe uključiti prikladne komentare:

- „U ispitivanom urinu su prisutne antimikrobne tvari te nalaz pretrage nije pouzdan.“
- „Rezultat urinokulture traži daljnja ispitivanja.“
- „Izoliran je rezistentan mikroorganizam – potrebno je primijeniti mjere kontaktne izolacije.“
- „Prisutnost bakterija u urinu kateteriziranog pacijenta ne znači nužno infekciju. Antimikrobnu terapiju treba primijeniti samo u slučaju kliničkih simptoma uroinfekcije.“

Eventualno se može dodati mišljenje i preporuka kliničkog mikrobiologa (vezano za terapiju, novi ili drugačiji uzorak).

Podaci o neočekivanim i/ili neuobičajenim izolatima (npr. *Salmonella* spp.), mikroorganizmima neuobičajenog rezistotipa te multiplo rezistentnim izolatima iz urinokulture kliničaru se, što je prije moguće, javljaju telefonom. Preporuka je da to bude unutar 24 h.

Pisani nalaz urinokulture se izdaje za 16-72 h.

2. INFEKCIJE MUŠKOG SPOLNOG SUSTAVA

2.1. Uvod

Infekcije muškog spolnog sustava obuhvaćaju urethritis, prostatitis, epididimitis, balanitis, balanopostitis te orhitis.

Urethritis je simptomatska infekcija uretre praćena iscjetkom, dizurijom te subjektivnim osjećajem žarenja ili peckanja prilikom mokrenja. Može biti udružen s IMS i bakterijskim prostatitisom. Prema kliničkoj prezentaciji razlikuje se akutni i kronični urethritis (5,8).

Prostatitis je upalno stanje prostate s različitom kliničkom prezentacijom, često udruženo s infekcijama urinarnog sustava u muškaraca. Sindrom prostatitisa možemo podijeliti u četiri kategorije: akutni bakterijski, kronični bakterijski, nebakterijski i asimptomatski upalni prostatitis (5,7,8). Na osnovu klasifikacija iz 1995. i 1998. god. (tablica 8.), danas se u pravilu govori o sindromu prostatitisa.

Tablica 8. Klasifikacija sindroma prostatitisa (5)

Kategorija prostatitisa	Klinička slika	B	U
Akutni bakterijski prostatitis	akutna infekcija prostate	+	+
Kronični bakterijski prostatitis	rekurentna infekcija prostate	+	+
Kronični nebakterijski prostatitis /sindrom kronične zdjelice boli bez dokazane infekcije	a. upalni oblik s leukocitima u ejakulatu, eksprimatu prostate i urinu nakon masaže	-	
	b. neupalni oblik bez leukocita u ejakulatu, eksprimatu prostate i urinu nakon masaže	-	-
Asimptomatski upalni prostatitis	asimptomatska infekcija prostate		
	histološki potvrđena dijagnoza s leukocitima u ejakulatu, eksprimatu prostate i urinu nakon masaže	-	+

B = bakteriurija, U = upala

Epididimitis je upala epididimisa koja nastaje kao posljedica infekcije (ureteralne ili urinarne) ili traume.

Balanitis je upala glansa penisa.

Balanopostitis je upala prepucija i glansa penisa.

Orhitis je upala testisa. Orhitis može nastati kao posljedica loknog širenja infekcije iz epididimisa ili kao samostalna infekcija (10).

Haemophilus ducreyi, *Herpes simplex virus 1 i 2* (HSV 1 i 2), *C. trachomatis* (LGV), *Treponema pallidum* i *Klebsiella (Calymmatobacterium) granulomatis* su uzročnici spolno prenosivih infekcija u muškaraca koji nisu obuhvaćeni ovim smjernicama (2).

2.2. URETRITIS

2.2.1. Etiologija

Tipičan uzročnik uretritisa je *Neisseria gonorrhoeae* koja uzrokuje prepoznatljiv klinički entitet - **gonokokni uretritis** (GU). Danas je u Europi češći **negonokokni uretritis** (NGU) kojeg uzrokuju *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma genitalium*, *Ureaplasma urealyticum* i *Trichomonas vaginalis*. U rjeđe uzročnike ubrajaju se *N. meningitidis*, *Haemophilus* spp., *Candida* spp. te neki virusi (6,8,29). Infekcija adenovirusima je obično praćena konjunktivitisom, a ostali virusi (EBV, HSV 1 i 2) su izuzetno rijetki uzročnici (41). *Mycoplasma hominis* se ne smatra uzročnikom uretritisa (5). *Ureaplasma parvum* uzrokuje asimptomatsku kolonizaciju (5,6), ali komercijalnim testovima za kultivaciju ureaplazmi se ne može razdvojiti od *Ureaplasma urealyticum*.

Uretritis može ponekad biti povezan s uroinfekcijom te je kod perzistirajućih infekcija uputno uzeti urinokulturu.

Uretritis može biti uzrokovan i neinfektivnim uzrocima poput strukture uretre i stranog tijela, ali trenutno ne postoje testovi kojima bi se razlikovao infektivni od neinfektivnog uretritisa.

Rijetki bakterijski uzročnici uključuju i *Enterobacteriaceae*, *Streptococcus* spp., *Staphylococcus aureus* (8). Značajnost nalaza ovih bakterija kao uzročnika uretritisa mora biti potvrđena nalazom velikog broja bakterija, u ponavljanim uzorcima, uz prisutnost leukocita i isključivanje gore navedenih tipičnih uzročnika uretritisa.

2.2.2. Uzorci

Obrisak uretre: tankim brisom s plastičnim ili žičanim drškom te rajonskim ili dakronskim vrhom ulazi se 2-3 cm u uretru, rotira 2-3 puta i zadrži nekoliko sekundi kako bi se adsorbirao sadržaj iz uretre (43). Uzorak se uzima barem jedan do tri sata nakon posljednjeg mokrenja i prije prvog mlaza urina.

Urin: prvi mlaz urina (VB 1- engl. *voided bladder urine* 1, urin iz uretre) u količini od 10-20 ml (barem jedan do dva sata nakon posljednjeg mokrenja) (6).

Uretralni iscjedak: uzorak se uzima kalibriranom ezom, stavlja na sterilno predmetno staklo za izradu mikroskopskog preparata te u 2 ml tekuće transportne podloge (Aimes) za kultivaciju.

Ako je prisutan, prvo se uzorkuje uretralni iscjedak a nakon njega prvi mlaz urina. U slučaju kroničnog ili rekurirajućeg uretritisa bez uretralnog iscjetka, prvi mlaz urina mora biti prvi jutarnji urin. Ako je potrebno uzeti više uzoraka iz uretre, uzorak za kultivaciju *N. gonorrhoeae* treba uzeti prvi jer se tako povećava uspješnost izolacije (43). Ako je moguće, uzorak može uzorkovati i sam pacijent (6). Kad je prisutan iscjedak, zbog udobnosti pacijenta, nije nužno uzimati obrisak uretre (29).

2.2.3. Transport i pohrana

Uzorke treba dostaviti odmah u mikrobiološki laboratorij ili staviti u transportnu podlogu odgovarajućeg komercijalnog testa za kultivaciju i/ili molekularnu dijagnostiku, odnosno Stuart ili Amies za kultivaciju *N. gonorrhoeae* i rjeđih bakterijskih uzročnika. Dostaviti pri sobnoj temperaturi unutar 24 sata.

Napomena: Mogućnost kultivacije *N. gonorrhoeae* značajno opada nakon 24 sata od uzorkovanja.

2.2.4. Mikroskopski preparat

Iz obriska uretre i iscjetka radi se Gram i metilen preparat. Mikroskopiranjem pri najvećem povećanju (1 000x) traže se mjesta s najvećim brojem leukocita (PMN) i, ako je prisutno prosječno 5 i više leukocita po vidnom polju (pregledano u pet vidnih polja), postavlja se dijagnoza uretritisa (6). Uputno je opisati vrstu i broj mikroorganizama. Nalaz intracelularnih Gram-negativnih diplokoza uz mnoštvo polimorfonukleara je indikativan za gonokokni uretritis. Ako se dijagnoza postavlja pretraživanjem prvog mlaza urina, urin se centrifugira i sediment oboji po Gramu i traži prisustvo >10 leukocita po vidnom polju (pregledano u pet vidnih polja, pod povećanjem od 400x) u području s najvećim brojem leukocita (6).

Uzorke bolesnika bez simptoma uretritisa ili onih koji nemaju visoki rizik za spolno prenosive bolesti (40), i u kojima nema značajnog broja leukocita, ne treba dalje obrađivati (41). U slučaju da epidemiološki i klinički podaci nisu poznati svaki uzorak iz uretre se obrađuje na tipične uzročnike uretritisa bez obzira na mikroskopski nalaz, kad leukociti nisu prisutni u značajnom broju uzorci se ne obrađuju na rijetke bakterijske uzročnike (enterobakterije, streptokoki, stafilokoki).

2.2.5. Kultivacija i identifikacija

2.2.5.1. Postupci za dokazivanje uzročnika koji se ne mogu ili se teže kultiviraju:

- ***Mycoplasma genitalium*** – molekularna tehnika amplifikacije nukleinske kiseline (engl. *nucleic acid amplification test*, NAAT).
- ***Chlamydia trachomatis*** – molekularna tehnika amplifikacije nukleinske kiseline (NAAT), direktna imunofluorescencija (DIF).
 - o **Napomena:** DIF se pokazala manje osjetljivom u odnosu na molekularne metode identifikacije *C. trachomatis* (6).
- ***Ureaplasma urealyticum*, *Ureaplasma parvum*** - komercijalni testovi za izolaciju i/ili kvantitativni PCR. Komercijalni testovi za izolaciju otkrivaju $\geq 10^4$ CCU (engl. „color-changing units“) /ml mikroorganizama pri čemu se broj manji od 10^4 ne smatra značajnim. Za uzročnike prisutne u značajnom broju moguće je testiranje osjetljivosti kompatibilnim testovima i interpretacija prema M43A standardu, CLSI 2011. Pomoću komercijalnih testova za izolaciju ne razlikuje se *Ureaplasma parvum* (uzrokuje asimptomatsku kolonizaciju) od *U. urealyticum* (uzrokuje infekciju) te je stoga preporučena metoda kvantitativni PCR kojim se razlikuju ove dvije vrste (6).
- ***T. vaginalis*** – mikroskopski preparat „InPouch“ komercijalna podloga za kultivaciju. Infekcija je udružena s diskretnim kliničkim simptomima (jutarnji iscjedak, svrbež). Nativni mikroskopski preparat pregledan unutar 15 minuta od uzimanja uzorka smatra se nedovoljno osjetljivom metodom u muškaraca, stoga se preporučuje „InPouch“ kultura (12,24,27) odnosno NAAT (6,8). Testiranje na *T. vaginalis* se preporučuje u muškaraca s perzistirajućim simptomima uretritisa nakon neuspješne terapije, odnosno nakon što se isključe *N. gonorrhoeae*, *C. trachomatis* i *M. genitalium*.

2.2.5.2. Identifikacija uzročnika koji se kultiviraju

Tablica 9. Očekivani uzročnici uretritisa koji se kultiviraju (5,6,29)

Uzročnik	Standardna podloga	Inkubacija		
		Temp. (°C)	Atmosfera	Vrijeme
<i>N. gonorrhoeae</i>	Čokoladni agar ili selektivni čokoladni agar za gonokoke	35-37	5-10 % CO ₂	40-72 h
<i>Haemophilus spp.</i>, <i>N. meningitidis</i>	Čokoladni agar ili krvni agar sa stafilokoknom crtom	35-37	5-10 % CO ₂	40-48 h
Enterobakterije,* <i>S. pyogenes</i>*, <i>S. aureus</i>*, <i>S. agalactiae</i>*	Krvni agar	35-37	aerobno	24-48 h

* Rijetki uzročnici uretritisa; nalaz izdati ako su prisutni u čistoj kulturi, uz prisutnost leukocita i u ponovljenom uzorku, ako su prethodno isključeni uzročnici GU odnosno NGU (v. pogl. 2.2.1.). U slučaju gram-negativnih bakterija provjeriti radi li se o uroinfekciji uzimanjem urinokulture.

Testiranje osjetljivosti na antibiotike izvodi se u skladu sa smjernicama Odbora u svrhu praćenja rezistencije bakterija na antibiotike AMZH i smjernicama EUCAST-a.

2.2.6. Izdavanje nalaza

Negativan nalaz:

- Sterilno/ Negativno.
- Urogenitalna mikrobiota.
- Traženi mikroorganizam nije izoliran.
- Klinički značajni mikroorganizmi nisu izolirani.

Pozitivan nalaz:

- Traženi mikroorganizam kvalitativno (*C. trachomatis*, *M. genitalium*, *T. vaginalis*).
- Traženi mikroorganizam kvantitativno (*Ureaplasma*), s antibiogramom.
- Traženi mikroorganizam (npr. *N. gonorrhoeae*), s antibiogramom.

Mikroskopski preparat: Navesti broj polimorfonukleara i eventualnu prisutnost mikroorganizama.

a/ Mikroskopski nalaz koji upućuje na **uretritis:**

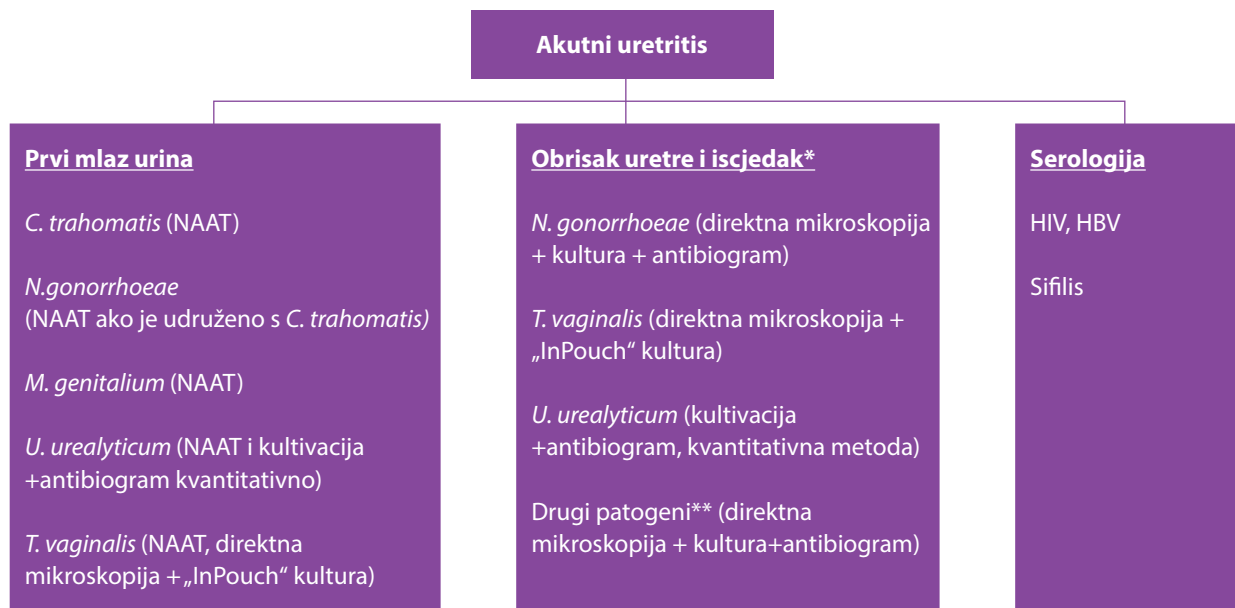
- ≥ 5 L po vidnom polju pod povećanjem od 1 000x u iscjetku ili obrisku uretre, pregledom mjesta s najvećim brojem leukocita (PMN), ili
- ≥ 10 L po vidnom polju, pregledano u pet vidnih polja pod povećanjem od 400x u sedimentu prvog mlaza urina.

b/ Mikroskopski nalaz koji ne upućuje na **uretritis:**

- < 5 L po vidnom polju pod povećanjem od 1 000x u iscjetku ili obrisku uretre, pregledom mjesta s najvećim brojem leukocita (PMN)
- < 10 L po vidnom polju pod povećanjem od 400x u sedimentu prvog mlaza urina.

Komentar nalaza:

- Mikroskopski nalaz upućuje na uretritis.
- Mikroskopski nalaz ne upućuje na uretritis.
- Pri nalazu bakterija koje rijetko uzrokuju uretritis: „izolirane bakterije rijetko uzrokuju uretritis, preporučuje se ponoviti uzorak“.

Slika 1. Dijagram za dijagnostiku akutnog uretritisa (6)

*Iscjedak iz uretre se uzorkuje za izradu mikroskopskog preparata, za kultivaciju *N. gonorrhoeae*, za „inPouch“ za *T. vaginalis*

** Drugi patogeni (v. pogl. 2.2.1.) su rijetko uzročnici uretritisa te se smatraju uzročnicima samo u iznimnim situacijama (v. Tablicu 9.).

*** Kako se akutni urethritis smatra spolno prenosivom bolesti, preporučuje se u takvih bolesnika napraviti pretrage i na druge spolno prenosive bolesti tj. serologiju na HIV, sifilis te HBV s obzirom na epidemiološku situaciju i procijepljenost. U Republici Hrvatskoj je obavezno cijepljenje protiv HBV uvedeno 1999. god. za učenike 6. razreda osnovne škole, a za novorođenčad od 2007. god.

Napomena: Za molekularnu dijagnostiku pogodni uzorci su prvi mlaz urina i obrisak uretre.

Kod rekurirajućeg ili perzistentnog uretritisa, osim uobičajenih uzoraka, potrebno je uzeti i srednji mlaz urina kako bi se isključila infekcija mokraćnog sustava.

2.3. PROSTATITIS

2.3.1. Etiologija

Smatra se da više od 90% pacijenata sa sindromom prostatitisa ima nebakterijski oblik bolesti (33,34).

Uzročnici bakterijskog prostatitisa se dijele u skupinu **očekivanih** (*E. coli*, *P. mirabilis*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *Enterococcus* spp.) i **skupinu patogena dvojbenog značaja** (*C. trachomatis*, *U. urealyticum*, *M. genitalium*, *M. hominis*, *Staphylococcus aureus*, KNS, *Streptococcus* spp., *Aerococcus urinae*) (5,6,33). U nebakterijske uzročnike spadaju i oni rijetki poput *T. vaginalis*, *Candida* spp. i, u HIV+ osoba, *C. neoformans* (8). Postoje podaci da u etiologiji prostatitisa važnu ulogu ima sposobnost stvaranja biofilma pojedinih uzročnika. Pojedine europske smjernice navode dvojbenu ulogu *N. gonorrhoeae* u etiologiji prostatitisa (5,6,8,9).

2.3.2. Uzorci

Akutni bakterijski prostatitis (klinički simptomi traju do 3 mjeseca)

Osnovni uzorak za dijagnostiku je srednji mlaz urina (5) a dijagnoza se, uz prisutnost kliničkih simptoma, postavlja na temelju nalaza $\geq 10^4$ bakterija u ml srednjeg mlaza urina i nalazu > 5 leukocita u vidnom polju sedimenta urina pod velikim povećanjem (400x) (5,34,35).

Napomena: **Masaža prostate je kontraindicirana u slučaju akutnog bakterijskog prostatitisa!** Kada postoje znakovi sepse uputno je uzeti i hemokulture.

Kronični bakterijski prostatitis

Kako bi se otkrilo izvorište bakterija nađenih u uzorku urina koristi se test „četiri čaše“ (35) (tablica 9.) ili test „dvije čaše“ (5,9,30,31,36). Test „dvije čaše“ je jednostavniji za izvođenje, a daje klinički podudarne rezultate kao i test „četiri čaše“ te mu se daje prednost u rutinskom radu (5,8).

U dijagnostici prostatitisa se ne preporučuje bakteriološka pretraga ejakulata jer daje nepouzdan rezultate (5,6). Uzorak ejakulata se može koristiti za citološku procjenu kvalitete sperme (5).

C. trachomatis, *M. genitalium* i *N. gonorrhoeae* često uzrokuju uretritis, a njihova uloga u etiologiji prostatitisa je dvojben (5,6,17). Stoga, pri traženju ovih uzročnika, paralelno s uzorcima koji potječu iz prostate (EPS, engl. *expressed prostatic secretion* - sekret prostate istisnut digitalnom masažom ili VB3, engl. *voided bladder urine* 3 – urin uzet neposredno nakon masaže prostate), treba uzeti i obrisak uretre ili prvi mlaz urina kako bi se isključila kontaminacija uzorka iz prostate uzročnicima koji su prisutni u uretri. Negativan nalaz obriska uretre, odnosno prvog mlaza urina, i pozitivan nalaz EPS ili VB3, jasno ukazuju na prostatitis uzrokovan ovim uzročnicima. Moguće slučajeve istovremenog uretritisa i prostatitisa teško je na temelju bakteriološkog testiranja razlučiti od izoliranog uretritisa s obzirom da će u oba slučaja uzročnici biti prisutni u uzorcima i prije i poslije masaže prostate (28, 33, 35,36).

Napomena: Kada postoji klinička sumnja na tuberkulozu urogenitalnog sustava, jutarnji urin i ejakulat se šalju na specifičnu dijagnostiku (8), koja nije obuhvaćena ovim smjernicama.

Tablica 10. Protokol uzimanja uzoraka za dokazivanje kroničnog prostatitisa (5,8)

Uzorak	Oznaka	Uzima se metodom „dvije čaše“	Opis
PRVI MLAZ URINA	VB1	Ne	prvih 5-8 ml urina, kultura urina iz uretera
SREDNJI MLAZ URINA	VB2	Da	kultura urina iz mokraćnog mjehura
ISTISNUT SEKRET			
PROSTATE	EPS	Ne	sekret prostate istisnut
digitalnom masažom*			
TREĆI MLAZ URINA	VB3	Da	kultura prvih 2-3 ml urina neposredno nakon masaže prostate

*Ako se digitalnom masažom ne dobije obilniji sekret, preporučuje se kap sekreta uzorkovati ezom ili brisom.

VB = engl. „*voided bladder urine*“, izmokreni urin

EPS = engl. „*expressed prostatic secretion*“, istisnuti sekret prostate

2.3.3. Transport i pohrana

Uzorke treba dostaviti u mikrobiološki laboratorij odmah nakon uzorkovanja, sukladno preporučenom testu „4“ ili „2 čaše“. Napomena: **Uzorke koji uključuju masažu prostate uzima urolog** (5).

2.3.4. Mikroskopski preparat

Akutni bakterijski prostatitis: > 5 leukocita u svakom vidnom polju sedimenta srednjeg mlaza urina pod velikim povećanjem (400x).

Kronični bakterijski prostatitis: > 10 leukocita u svakom vidnom polju sedimenta eksprimata prostate ili uzorka mokraće uzorkovanog neposredno nakon masaže prostate pod velikim povećanjem (400x).

Napomena: Pri citološkom pregledu, makrofagi koji sadrže lipide (engl. *lipid-laden macrophages*) prisutni u uzorku VB3 i/ili EPS, karakteristični su za upalom zahvaćenu prostatu (25, 26).

2.3.5. Kultivacija i identifikacija

Tablica 11. Principi kultivacije uzoraka i interpretacije nalaza u slučaju prostatitisa

Klinička slika / indikacija	Uzorak	Standardna podloga	Inkubacija			Traženi mikroorganizam
			Temp (°C)	Atmosfera	Vrijeme	
Akutni prostatitis	srednji mlaz urina	CLED ili kromogeni agar	35-37	aerobna	16-24 h (48 h)	enterobakterije, <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , enterokoki, druge bakterije* ≥10 ⁴ CFU/ml
Kronični prostatitis	Test „4 čaše“** VB1 VB2 EPS VB3	Kao gore				Kao gore
	Ako su patogeni prisutni <u>samo</u> u uzorcima ESP i VB3 u količini ≥ 10 ³ CFU/ml ili je CFU/ml u uzorcima EPS i VB3 najmanje 10x veća nego u uzorcima VB1 i VB2, testiranje upućuje na kronični bakterijski prostatitis (9, 10, 37).					
	Test „2 čaše“: 1. uzorak urina prije masaže prostate (VB2) 2. uzorak urina poslije masaže prostate (VB3)			Kao gore		Kao gore
	Ako su patogeni prisutni <u>samo</u> u uzorku VB3 u količini ≥ 10 ³ CFU/ml ili je CFU/ml u uzorku VB3 najmanje 10x veća nego u uzorku VB2, testiranje upućuje na kronični bakterijski prostatitis (9,10,30,31,37).					

* značaj izolacije čiste kulture drugih bakterija koje rijetko uzrokuju infekciju, a često koloniziraju kožu (v. 2.3.1. i tablicu 7.) treba provjeriti ponavljanjem uzorka.

** v. tablicu 9.

Identifikacija se izvodi u skladu s laboratorijskim postupcima u svrhu identifikacije mikroorganizama, a osjetljivost na antibiotike u skladu s EUCAST standardima.

Za uzročnike *C. trachomatis*, *M. genitalium*, *U. urealyticum* te *M. hominis* koriste se molekularne tehnike amplifikacije nukleinske kiseline (*C. trachomatis*, *M. genitalium*) ili komercijalni kitovi u svrhu kultivacije i identifikacije (*U. urealyticum*, *M. hominis*). Kako se radi o uzročnicima dvojbenog značaja u etiologiji prostatitisa, dijagnostika se radi iz uzoraka koji potječu s mjesta infekcije – istisnuti sekret (EPS) ili VB3 te paralelno iz obriska uretre ili prvog mlaza urina kako bi se isključio uretritis i kontaminacija EPS i VB3 uzoraka bakterijama iz uretre.

Tablica 12. Algoritam mikrobiološke dijagnostike prostatitisa i interpretacije nalaza u skladu s testom „4 čaše“ (5,9)

Kategorija prostatitisa	Broj leukocita (x 400)	Bakteriurija			
		VB 1	VB 2	EPS	VB 3
Akutni bakterijski prostatitis (akutna infekcija prostate)	>5 (VB2)	Ne radi se	+ ≥ 10 ⁴ CFU/ml	Ne radi se	Ne radi se
Kronični bakterijski prostatitis (rekurentna infekcija prostate)	>10 (EPS, VB3)	-	-	+	+
		Ako su patogeni prisutni <u>samo</u> u uzorcima ESP i VB3 u količini ≥ 10 ³ CFU/ml ili je CFU/ml u uzorcima EPS i VB3 najmanje 10x veća nego u uzorcima VB1 i VB2, testiranje upućuje na kronični bakterijski prostatitis (30,31,34-37).			
Kronični nebakterijski prostatitis, (sindrom kronične zdjelične boli), upalni oblik	>10 (EPS, VB3)	-	-	-	-
Kronični nebakterijski prostatitis (sindrom kronične zdjelične boli), neupalni oblik	<10 (EPS, VB3)	-	-	-	-
Asimptomatski upalni prostatitis (asimptomatska infekcija prostate), histološki +	>10 (EPS, VB3)	-	-	-	-

2.3.6. Izdavanje nalaza

Negativan nalaz:

- Sterilno.
- Urogenitalna mikrobiota.
- Traženi mikroorganizam nije izoliran.
- Klinički značajni mikroorganizmi nisu izolirani.

Pozitivan nalaz:

- Navesti naziv i broj (CFU/ml) izoliranog patogena uz antibiogram.
- Traženi mikroorganizam kvalitativno (*C. trachomatis*, *M. genitalium*).
- Traženi mikroorganizam kvantitativno (*Ureaplasma* spp., *M. hominis*) uz antibiogram.

Mikroskopski preparat: opisati broj i vrstu viđenih mikroorganizama, prisutnost polimorfonukleara.

Napomena: Pri citološkom pregledu, makrofagi koji sadrže lipide (engl. *lipid-laden macrophages*) prisutni u uzorku VB3 i/ili EPS, karakteristični su za upalom zahvaćenu prostatu (25, 26).

Komentar nalaza:

Kod testa „4 čaše“ ili „2 čaše“ interpretacija nalaza ovisi o broju bakterija:

- U svim uzorcima broj bakterija <10³. Izdati nalaz: sterilan ili negativan.
- Broj bakterija u ESP i/ ili VB3 najmanje 10X veći negoli u VB1 i/ili VB2. Izdati nalaze s antibiogramom uz komentar: „**Nalazi upućuju na kronični bakterijski prostatitis**“.
- Bakterije prisutne samo u ESP i/ ili VB3 u količini ≥10³CFU/ml. Izdati nalaze s antibiogramom uz komentar: „**Nalazi upućuju na kronični bakterijski prostatitis**“.
- U VB1 i/ili VB2 veći broj bakterija negoli u ESP i/ ili VB3. Izdati nalaze s antibiogramom uz komentar: „**Nalazi ne upućuju na kronični bakterijski prostatitis**.“
- Broj bakterija ≥10³CFU i jednak u svim uzorcima. Izdati nalaze s antibiogramom uz komentar: „**Zbog istog broja bakterija u svim uzorcima testa „4 čaše“ (ili „2 čaše“), ne može se zaključiti radi li se o infekciji prostate.**“

2.4. EPIDIDIMITIS

2.4.1 Etiologija

U pacijenata mlađih od 35 god. najčešći uzročnici epididimitisa su spolno prenosivi patogeni *C. trachomatis*, *M. genitalium* i *N. gonorrhoeae*, dok su u starijih dobnih skupina češći uropatogeni poput *E. coli*, *P. aeruginosa*, *Enterococcus* spp. te *M. tuberculosis* (5,8).

2.4.2. Uzorci

Preporučeni uzorak je srednji mlaz urina i obrisak uretre za kultivaciju uropatogena, te prvi mlaz urina i / ili obrisak uretre u svrhu detekcije spolno prenosivih patogena.

2.4.3. Transport i pohrana

Urin se dostavlja u mikrobiološki laboratorij odmah nakon uzorkovanja ili unutar 24 sata pri +4°C. Bris se dostavlja odmah ili se može staviti u transportnu podlogu (Stuart ili Amies) i unutar 24h dostaviti pri sobnoj temperaturi. Uzorci za molekularnu dijagnostiku dostavljaju se u odgovarajućim transportnim podlogama prema uputi.

2.4.4. Mikroskopski preparat

Kao kod uretritisa, budući da je epididimitis česta komplikacija uretritisa.

2.4.5. Kultivacija i identifikacija

Uz već opisanu kultivaciju urina (1.10.) i obriska uretre (2.2.), u mlađim dobnim skupinama potrebno je primijeniti molekularne testove koji otkrivaju spolno prenosive uzročnike (tablica 13.) dok u starijih pacijenata potrebno je uključiti i kultivaciju *M. tuberculosis*.

Tablica 13. Identifikacija uzročnika epididimitisa u mlađim dobnim skupinama

Uzročnik	Uzorak	Preporučena pretraga	Antibiogram
<i>C. trachomatis</i>	Prvi mlaz urina	NAAT	Ne
<i>M. genitalium</i>	Prvi mlaz urina	NAAT	Ne
<i>N. gonorrhoeae</i>	Prvi mlaz urina Obrisak uretre	NAAT ili kultivacija (v. tablicu 9.)	Da, nakon kultivacije u skladu s EUCAST standardima

2.4.6. Izdavanje nalaza

Negativan nalaz:

- Sterilno.
- Traženi mikroorganizam nije izoliran.
- Klinički značajni mikroorganizmi nisu izolirani.

Pozitivan nalaz:

- Traženi mikroorganizam kvalitativno (*C. trachomatis*, *M. genitalium*).
- Traženi mikroorganizam, s antibiogramom.

Mikroskopski preparat: opisati broj i vrstu viđenih mikroorganizama te prisutnost polimorfonukleara (v. 2.2.6.).

2.5. BALANITIS I BALANOPOSTITIS

2.5.1. Etiologija

Najčešći uzročnici su kvasci (rod *Candida*), HSV, *S. pyogenes* (BHS-A), *S. agalactiae* (BHS-B), *S. aureus*, anaerobne bakterije.

2.5.2. Uzorci

Preporučeni uzorak je obrisak penisa ili iscjedak.

2.5.3. Transport i pohrana

Dostaviti odmah po uzimanju uzorka ili, ako je transport odgođen do 24 sata, u transportnoj podlozi (Stuart ili Amies) pri sobnoj temperaturi.

2.5.4. Mikroskopski preparat

Gram preparat obriska ili iscjетка: opisati nalaz mikroorganizama i polimorfonukleara.

2.5.5. Kultivacija

Tablica 14. Kultivacija uzoraka pri sumnji na balanitis i balanopostitis

Uzročnik	Standardna podloga	Temp. (°C)	Atmosfera	Vrijeme	Identifikacija/ testiranje osjetljivosti
Kvasci	Sabouraud agar	30 i 35-37	aerobno	5 d	<i>C. albicans</i> , <i>C. nonalbicans</i> Ne
Gram pozitivni koki	Krvni agar	35-37	aerobno	48 h	BHS-A BHS-B <i>S. aureus</i> Da, u skladu s EUCAST standardima
Anaerobi	Anaerobni agar	35-37	anaerobno	48 h	Do razine vrste/ Da, u skladu s EUCAST standardima

2.5.6. Izdavanje nalaza

Negativan nalaz:

- Sterilno.
- Klinički značajni mikroorganizmi nisu izolirani.

Pozitivan nalaz:

- Izolirani patogen s antibiogramom (kvasci bez antibiograma, osim ako za individualni slučaj ne postoji poseban dogovor s kliničarem).

Mikroskopski preparat: opisati broj i vrstu viđenih mikroorganizama te prisutnost polimorfonukleara.

2.6. ORHITIS

2.6.1. Etiologija

Orhitis je najčešće posljedica viremije (mumps, echovirusi, arbovirusi).

Bakterijski orhitis je komplikacija sistemskih infekcija (*S. Typhi*, *Brucella* spp., *Coxiella burnetii*) koje nisu obrađene u ovim smjernicama.

Kao uzročnici bakterijskog orhitisa se rijetko javljaju enterobakterije, *Pseudomonas* spp., *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp. te *M. tuberculosis*.

2.6.2. Uzorak

Kako se bakterijska infekcija često javlja udruženo s epididimitisom, preporučeni uzorak je urin koji se obrađuje na već opisani način kao u slučaju epididimitisa, te nema potrebe da se detektiraju spolno prenosivi uzročnici (v. 2.4).

3. INFEKCIJE ŽENSKOGA SPOLNOG SUSTAVA

3.1. UVOD

Uzorci iz spolnoga sustava žena šalju se u mikrobiološki laboratorij:

- zbog otkrivanja mikroorganizama u žena sa simptomima vulvovaginitisa, cervicitisa, uretritisa, salpingitisa, endometritisa, zdjelične upalne bolesti, bartolinitisa
- u trudnica za otkrivanje mikroorganizama koji mogu dovesti do nastanka bolesti u novorođenčadi

Gornji dijelovi ženskoga spolnoga sustava primarno su sterilni. Rodnica je prekrivena pločastim epitelom i miješanom bakterijskom florom koja čini normalnu floru rodnice.

Normalnu floru rodnice čine *Lactobacillus* spp., *Corynebacterium* spp., koagulaza negativni stafilokoki, *Streptococcus* spp., *Enterococcus* spp., dok neki mikroorganizmi kao što su *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, anaerobi, *Gardnerella vaginalis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma* spp. i gljive mogu biti kako fiziološka flora tako i, u određenim okolnostima, uzročnici upale.

Ispravna dijagnoza infekcije spolnoga sustava podrazumijeva razlikovanje patogenih bakterija od normalne flore spolnoga sustava. Uvijek je potrebno usporediti porast bakterija na ploči s brojem upalnih stanica (polimorfonukleara, PMN) u Gram preparatu obriska (iscjetka) (12).

Tablica 15. Interpretacija mikroskopskog nalaza uzorka iz ženskoga spolnoga sustava obojenog po Gramu (11, 12)

Stanice (epitelne, PMN) broj/vp (100x)			Mikroorganizmi (bakterije, gljive) broj/vp (1 000x)		
<1	1+	rijetki	<1	1+	rijetke
1 do 9	2+	nešto	1 do 5	2+	nešto
10 do 25	3+	umjereno	6 do 30	3+	umjereno
>25	4+	mного	>30	4+	mного

vp = vidno polje

Prisutnost više PMN nego epitelnih stanica upućuje na infekciju. Nalaz > 25 leukocita po vidnom polju pri povećanju od 100x ili > 10 leukocita po vidnom polju pri povećanju od 400x ukazuje na infekciju. Potrebno je pregledati najmanje 10 vidnih polja (6,14).

Ovakva interpretacija se ne može primijeniti za mikroskopiranje tekućih uzoraka (npr. aspirata) koji su prethodno centrifugirani (11).

Mikroskopski preparat je vrlo važan u dijagnostici bakterijske vaginoze i infekcija koje uzrokuje *Neisseria gonorrhoeae*, pa se preporučuje za takve pretrage uzeti posebni obrisak za preparat.

Haemophilus ducreyi, *Herpes simplex virus* 1 i 2 (HSV 1 i 2), *C. trachomatis* (LGV), *Treponema pallidum* i *Klebsiella (Calymmatobacterium) granulomatis* su uzročnici spolno prenosivih infekcija u žena koji nisu obuhvaćeni ovim smjernicama (2).

Citomegalovirus može uzrokovati infekcije u trudnoći, a HPV može dovesti do razvoja neoplazije spolnoga sustava žena, ali njihova dijagnostika nije obuhvaćena ovim smjernicama (12).

3.2. BAKTERIJSKA VAGINOZA, VAGINITIS, VULVOVAGINITIS

3.2.1. Etiologija

Iako je rodica kolonizirana miješanom bakterijskom florom koja čini normalnu floru rodice, u određenim okolnostima pojedine bakterije normalne flore mogu dovesti do razvoja infekcije.

Bakterijska vaginoza je klinički sindrom koji nastaje zbog promjene vaginalne flore (smanjenje broja laktobacila a povećanje broja gardnerela, anaeroba, mobilunkusa i mikoplazmi), bez znakova upale. Kao rezultat ovog poremećaja dolazi do nastanka obilnog vaginalnog iscjetka neugodnog mirisa (koji se pojačava kada mu se doda 10% KOH), porasta pH iznad 4,5 i pojave tzv. „clue“ stanica koje se mogu vidjeti u direktnom preparatu (10,11).

Vaginitis je upala rodice i manifestira se iscjetkom. Najčešći uzročnici vaginitisa su *Candida* spp. i *Trichomonas vaginalis*. Beta-hemolitički streptokoki i *Staphylococcus aureus* rijetko uzrokuju vaginitis u odraslih žena, češće u djece. Kod starijih žena čest je atrofični vaginitis uslijed manjka estrogena i neravnoteže fiziološke mikrobiote.

Vulvovaginitis je upala sluznice vulve i rodice. Uzorci za mikrobiološku dijagnostiku uzimaju se samo ako su prisutni bol, crvenilo ili edem (najčešće u djevojčica prije puberteta (10,12) i žena u menopauzi). Osim već navedenih uzročnika vaginitisa, kod djece se može očekivati i *Haemophilus influenzae* (10).

3.2.2. Uzorak

- Kod bakterijske vaginoze i vaginitisa uzorak je obrisak rodice. Uzima se u ginekološkoj ordinaciji uz uporabu spekuluma (obrisati brisom gornji dio stražnjeg zida rodice) (6,12).
- Kod vulvitisa uzorak je obrisak vulve. Očistiti područje s kojeg se uzorkuje fiziološkom otopinom, te uzeti obrisak laganim rotirajućim pokretima (12,15).

3.2.3. Transport i pohrana

- Brisove u transportnoj podlozi (Stuart ili Amies) pri sobnoj temperaturi što prije dostaviti u laboratorij (u vremenu do 24 sata od uzorkovanja).

3.2.4. Mikroskopski preparat

Gram preparat - utvrđuje se:

- Broj polimorfonukleara i prisutnost stanica pločastog epitela (Tablica 15.)
- Prisutnost „clue“ stanica (pločaste epitelne stanice rodice čiji su rubovi prekriveni Gram varijabilnim pleomorfim kokobacilima).
- Brojčani odnos Gram-pozitivnih bacila (*Lactobacillus* spp.) i Gram-negativnih i Gram-varijabilnih kokobacila (Tablica 16. ili Tablica 17.).

Nativni preparat – utvrđuje se:

- Prisutnost gljiva i *Trichomonas vaginalis*

Tablica 16. Interpretacija Gram preparata za dijagnostiku bakterijske vaginoze prema Nugent kriterijima (6, 10, 11)

<i>Lactobacillus</i> spp. (Gram-pozitivni bacili)		<i>Gardnerella vaginalis</i> (Gram-varijabilni bacili i kokobacili)		<i>Mobiluncus</i> spp. (zavinuti Gram-varijabilni bacili)	
broj/vp 1 000x	oznaka	broj/vp 1 000x	oznaka	broj/vp 1 000x	oznaka
>30	0	>30	4	>30	4
5 do 30	1	5 do 30	3	5 do 30	3
2 do 4	2	2 do 4	2	2 do 4	2
1	3	1	1	1	1
nema	4	nema	0	nema	0

Interpretacija nalaza (zbroj oznaka):

0-3 Normalna flora rodnice.

4-6 Promijenjena flora rodnice; ne može se utvrditi je li u pitanju bakterijska vaginoza; vjerojatno se radi o prijelaznoj fazi. Ako simptomi potraju, preporučuje se ponoviti pretragu.

7-10 Gram preparat upućuje na bakterijsku vaginozu.

Tablica 17. Interpretacija Gram preparata za dijagnostiku bakterijske vaginoze prema kriterijima Haya i Isona (42)

Kategorija	Mikroskopski nalaz
1	Lactobacillus morfotip dominira.
2	Intermedijarna flora, prisutno nešto Lactobacillus morfotipa i nešto <i>Gardnerella</i> i/ ili <i>Mobiluncus</i> morfotipova.
3	Dominira <i>Gardnerella</i> i/ili <i>Mobiluncus</i> morfotip. Nešto ili odsutni laktobacili.

Interpretacija nalaza:

1 Normalna flora rodnice.

2 Intermedijarna flora rodnice, ne može se utvrditi je li u pitanju bakterijska vaginoza; vjerojatno se radi o prijelaznoj fazi. Ako simptomi potraju, preporučuje se ponoviti pretragu.

3 Gram preparat upućuje na bakterijsku vaginozu.

3.2.5. Kultivacija

Kod bakterijske vaginoze kultivacija nema kliničko značenje jer *Gardnerella* može biti dio normalne mikrobiote. *G. vaginalis* se može izdati u nalazu samo ako je prisutna u značajnoj količini u odnosu na normalnu mikrobiotu rodnice (porast na 3 – 4 kvadranta ploče) i ako mikroskopski nalaz, koji ima glavno mjesto u dijagnostici bakterijske vaginoze, po Nugentovim ili Hayovim kriterijima upućuje na bakterijsku vaginozu.

Tablica 18. Kultivacija obriska rodnice i obriska vulve

Uzorak	Podloga	Inkubacija			Čitanje	Traženi mikroorganizmi
		Temp. (°C)	Atmosfera	Vrijeme		
Obrisak rodnice Obrisak vulve	Krvni agar	35-37	5-10% CO ₂	16-24 h	dnevno	<i>S. aureus</i> <i>Streptococcus</i> gr. A, C i G
	Čokoladni agar*	35-37	5-10% CO ₂	40-48 h	>40 h	<i>N. gonorrhoeae</i> * <i>H. influenzae</i> *
	Sabouraud	35-37	aerobno	40-48 h	>40 h	<i>Candida</i>
	InPouch TV system	35-37	aerobno	do 5 dana	dnevno	<i>T. vaginalis</i>

* na ČA se nasijavaju uzorci djevojčica mlađih od 10 godina (10).

3.2.6. Identifikacija patogena i testiranje osjetljivosti na antibiotike

- Identifikacija bakterija se radi u skladu s laboratorijskim postupcima u svrhu identifikacije mikroorganizama.
- Testiranje osjetljivosti na antibiotike se radi sukladno smjernicama Odbora u svrhu praćenja rezistencije bakterija na antibiotike AMZH-a i smjernicama EUCAST-a.
- *Candida* spp. se rutinski u obrisku rodnice identificira do razine *Candida albicans*/*Candida nonalbicans*, a potrebu za identifikacijom do razine vrste i ispitivanje osjetljivosti na antimikotike potrebno je procijeniti za pojedinačne pacijente u dogovoru s kliničarem.
- Za dijagnostiku *Trichomonas vaginalis* radi se kombinacija nativnog preparata (unutar 15 minuta od uzorkovanja) i „InPouch“ kultivacije.

3.2.7. Izdavanje nalaza

Negativan nalaz:

- Klinički značajan mikroorganizam nije izoliran.
- Normalna mikrobiota ženskoga spolnog sustava.
- Sterilno.

Pozitivan nalaz:

- Mikroorganizam iz Tablice 18. U slučaju nalaza bakterija izdaje se s antibiogramom.

Nalaz mikroskopskog preparata:

Dijagnostika bakterijske vaginoze se radi na temelju mikroskopskog preparata. Prisutnost „clue“ stanica je specifična i ukazuje na bakterijsku vaginozu. Odsutnost „clue“ stanica ne isključuje bakterijsku vaginozu. U odsutnosti „clue“ stanica i neravnoteža fiziološke mikrobiote (procijenjeno prema Nugent ili Hay kriterijima) može ukazivati na bakterijsku vaginozu. Dvojbeni nalaz podrazumijeva da nisu prisutne „clue“ stanice, a promijenjena flora rodnice (Nugent score 4-6 ili Hay/ Ison grupa 2) upućuje na prijelaznu fazu, pa ako simptomi potraju potrebno je ponoviti pretragu.

Negativan nalaz:

- Nisu prisutne „clue“ stanice, niti postoji neravnoteža fiziološke mikrobiote. Mikroskopski nalaz ne upućuje na bakterijsku vaginozu.

Dvojben nalaz:

- Mikroskopski nalaz ne potvrđuje niti isključuje bakterijsku vaginozu, preporučuje se pratiti pacijenta.

Pozitivan nalaz:

- Prisutne „clue“ stanice i / ili neravnoteža fiziološke mikrobiote. Mikroskopski nalaz upućuje na bakterijsku vaginozu.
- Opisati broj polimorfonukleara i eventualno mikroorganizama iz Tablice 16 ili Tablice 17.

3.3. INFEKCIJE POVEZANE S TRUDNOĆOM KOJE UZROKUJE *Streptococcus agalactiae* (BHSB)

3.3.1. Etiologija

Pretraživanje da bi se utvrdilo jesu li trudnice kolonizirane bakterijom *Streptococcus agalactiae* (BHSB) i posljedična primjena antibiotske profilakse pri porodu danas se smatraju najefikasnijom metodom u sprječavanju neonatalne infekcije koju uzrokuje BHSB (13).

Uzorak za selekcija na BHSB uzima se svim trudnicama između 35. i 37. tjedna trudnoće.

3.3.2. Uzorci

- Uzorak je obrisak rodnice i anorektalnoga područja.
- Osjetljivost metode u pronalaženju kolonizacije znatno se povećava ako se obrisak uzme s oba gore navedena mjesta (rektum je rezervoar BHSB-a).
- Uzorkuje se BEZ upotrebe spekuluma, brisom se pobriše ulaz u rodnicu i potom rektum (može se koristiti 1 ili 2 brisa).
- Može se koristiti i uzorak kojeg pacijentice mogu same sebi uzeti prema uputi za uzorkovanje.
- **NE preporučuje se uzorkovanje obriska cerviksa za pretragu na BHSB (11)!**

3.3.3. Transport i pohrana

- Bris u transportnoj podlozi (Stuart ili Amies) pri sobnoj temperaturi što prije dostaviti u laboratorij (u vremenu do 24 sata od uzorkovanja).

3.3.4. Mikroskopski preparat

Ne preporučuje se.

3.3.5. Kultivacija

Tablica 19. Kultivacija uzorka za pretraživanje na BHSB

Uzorak	Podloga	Inkubacija			Čitanje	Traženi mikroorganizmi
		Temp. (°C)	Atmosfera	Vrijeme		
Kombinirani obrisak ulaza rodnice i rektuma	Todd-Hewitt bujon*	35-37	5-10% CO ₂	16-24 h	Supkultivacija KA ili Krom**	Streptococcus agalactiae
	Krvni agar	35-37	5-10% CO ₂	24-48 h	24h / 48h	
	Kromogena ploča**	35-37	aerobno	24-48 h	24h/ 48h	

*Todd-Hewitt bujon s dodatkom nalidiksične kiseline (15 µg/ml) i kolistina (10 µg/ml).

**Kromogena ploča za BHSB. Negativan nalaz se izdaje nakon 48 h.

3.3.6. Identifikacija patogena i testiranje osjetljivosti na antibiotike

- Identifikacija se radi u skladu s laboratorijskim postupcima u svrhu identifikacije mikroorganizama.
- Testiranje osjetljivosti na antibiotike se radi sukladno smjernicama Odbora u svrhu praćenja rezistencije bakterija na antibiotike AMZH-a i smjernicama EUCAST-a.

3.3.7. Molekularna dijagnostika BHSB

- BHSB se brzo može dokazati i molekularnom metodom amplifikacije nukleinskih kiselina kad za to postoji indikacija.

3.3.8. Izdavanje nalaza

Negativan nalaz:

- *Streptococcus agalactiae* nije izoliran/Negativno.

Pozitivan nalaz:

- *Streptococcus agalactiae* s antibiogramom.

3.4. CERVICITIS, URETRITIS

3.4.1. Etiologija

Cervicitis je upala vrata maternice (cervikalnog cilindričnog epitela). Upale cerviksa su važne zbog mogućnosti širenja infekcija na gornje dijelove spolnoga sustava (10). Najčešći uzročnici cervicitisa su *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae* i HSV. Genitalne mikoplazme i beta hemolitički streptokoki grupe A, C i G rjeđe uzrokuju cervicitis, najčešće u kombinaciji s drugim uzročnicima (10). HSV nije obuhvaćen ovim smjernicama.

Uretritis je upala mokraćne cijevi. Mokraćna cijev može biti inficirana istim mikroorganizmima koji uzrokuju cervicitis.

3.4.2. Uzorci

- Obrisak cerviksa se uzorkuje u ginekološkoj ordinaciji uz upotrebu spekuluma. Potrebno je odstraniti sluz i sekret brisom kojeg je potrebno baciti, te potom upotrijebiti novi sterilni bris za uzorkovanje uzorka iz endocervikalnog kanala na dubini od oko 1 cm. Ostaviti bris nekoliko sekunda da se pokupi eksudat. Izvaditi bris bez dodirivanja stjenke rodnice (6,12,15).
- Obrisak uretre se uzima u ginekološkoj ordinaciji. Prije uzorkovanja pacijentica ne smije mokriti najmanje 1 - 2 sata. Potrebno je oprati spolovilo, tankim brisom ući 1 cm u uretru i rotirati bris (6,12,15).
- Za pretragu na *N. gonorrhoeae* uzorkovati iscjedak, ako postoji. Potrebno je uzeti dva obriska: jedan za preparat, drugi za kultivaciju, te posebni obrisak za molekularnu dijagnostiku (ako se ovaj molekularni test radi u laboratoriju).
- Ako se u laboratoriju zaprimi samo jedan uzorak, prvo se nasijavaju bakteriološke podloge a potom izrađuje mikroskopski preparat.
- Za molekularnu dijagnostiku, osim navedenih vrsta uzoraka, moguće je uzeti i obrisak rodnice i prvi mlaz urina (uzima se barem 1-2 sata nakon posljednjeg mokrenja u količini od maksimalno 10 ml).
- Ako je prisutan prvo se uzima iscjedak, potom obrisak uretre i/ili zatim prvi mlaz urina.
- **Uzorak obriska cerviksa nije pogodan za dijagnostiku anaerobnih bakterija i ne obrađuje se anaerobno osim kad postoji sumnja na aktinomikozu kod intrauterinih uložaka.**

3.4.3. Transport i pohrana

- Brisove za kultivaciju u transportnoj podlozi (Stuart ili Amies) pri sobnoj temperaturi što prije dostaviti u laboratorij (u vremenu do 24 sata od uzorkovanja). Za pretrage na genitalne mikoplazme, gonoreju i klamidiju koristiti transportnu podlogu odgovarajućeg komercijalnog testa za kultivaciju i/ili molekularnu dijagnostiku.

3.4.4. Mikroskopski preparat

Utvrđuje se:

- Broj polimorfonukleara (Tablica 15)
- Prisutnost intracelularnih diplokoka

Kada se radi pretraga na *N. gonorrhoeae*, p napraviti dva preparata (metilen i Gram) koji se pretražuju na prisutnost polimorfonukleara i intracelularnih diplokoka (15).

3.4.5. Kultivacija i druge dijagnostičke metode

Tablica 20. Kultivacija obriska cerviksa i obriska uretre

Uzorak	Podloga	Inkubacija			Očitavanje	Traženi mikroorganizmi
		Temp. (°C)	Atmosfera	Vrijeme		
Obrisak cerviksa	Krvni agar	35-37	5-10% CO ₂	16-24 h	dnevno	<i>Streptococcus</i> gr. A, C i G <i>E. coli</i> *
Obrisak uretre Iscjedak	Thayer- Martin agar ili Čokoladni agar	35-37	5-10% CO ₂	48-72 h	48 h	<i>N. gonorrhoeae</i>

*Rijedak uzročnik uretritisa; nalaz izdati samo ako je *E. coli* prisutna u čistoj kulturi u obrisku uretre i ako su prethodno isključeni tipični uzročnici uretritisa (v.pogl. 2.2.1). Urinokulturom je potrebno provjeriti radi li se o uroinfekciji.

Za kultivaciju *N. gonorrhoeae* potrebno je prije nasijavanja čokoladni agar zagrijati na sobnu temperaturu. Ako je moguće, nasijati odmah po uzorkovanju u ambulanti.

Obrisak cerviksa, obrisak uretre i iscjedak, se uz krvni agar uvijek nasijavaju i na čokoladni agar ili selektivnu podlogu (npr. Thayer- Martin agar) zbog kultivacije *N. gonorrhoeae*. Kad postoji zahtjev za dijagnostikom *N. gonorrhoeae* kod jasne epidemiološke ili kliničke sumnje naznačene na uputnici uzorak svakako nasaditi i na jednu od selektivnih podloga (npr. Thayer- Martin agar) ili uraditi PCR.

Tablica 21. Dijagnostika bakterija koje se ne mogu ili se teško kultiviraju (6, 17, 18)

Bakterija	Uzorci	Mikroskopsko pretraživanje	Preporučena pretraga	Testiranje osjetljivosti na antibiotike
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	iscjedak obrisak uretre obrisak cerviksa prvi mlaz urina	Metilen Gram (unutarstanični diplokokci) ↓pouzdanost u žena	PCR	da (kultivacijom) čokoladni agar
<i>Chlamydia trachomatis</i>	obrisak uretre obrisak cerviksa obrisak rodnice prvi mlaz urina	ne	PCR	ne
<i>Mycoplasma hominis</i>	obrisak uretre obrisak cerviksa obrisak rodnice prvi mlaz urina	ne	komercijalni kit za identifikaciju	da za $\geq 10^4$ (komercijalni kit)
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	obrisak uretre obrisak cerviksa obrisak rodnice prvi mlaz urina	ne	komercijalni kit za identifikaciju	da za $\geq 10^4$ (komercijalni kit)
<i>Mycoplasma genitalium</i>	obrisak uretre obrisak cerviksa obrisak rodnice prvi mlaz urina	ne	PCR	ne

Urin je pogodan samo za molekularnu dijagnostiku za gore navedene uzročnike te u svrhu identifikacije i testiranje osjetljivosti *U. urealyticum* i *M. hominis* kod uretritisa.

U iznimnim situacijama ako postoji klinička indikacija za razlikovanje *U. urealyticum* od *U. parvum* može se uraditi kvantitativni PCR samo u specijaliziranim laboratorijima (6).

3.4.6. Identifikacija patogena i testiranje osjetljivosti na antibiotike

- Identifikacija se radi u skladu s laboratorijskim postupcima u svrhu identifikacije mikroorganizama.
- Testiranje osjetljivosti na antibiotike se radi sukladno smjernicama Odbora u svrhu praćenja rezistencije bakterija na antibiotike AMZH-a i smjernicama EUCAST-a.
- Za bakterije *C. trachomatis* i *M. genitalium* ne radi se testiranje na antibiotike.

3.4.7. Izdavanje nalaza

Negativan nalaz:

- Klinički značajan mikroorganizam nije izoliran.
- Normalna mikrobiota ženskoga spolnog sustava.
- Sterilno
- Negativno

Pozitivan nalaz:

- Mikroorganizam iz Tablice 20. s antibiogramom.
- PCR na *Chlamydia trachomatis* je pozitivan
- PCR na *Mycoplasma genitalium* je pozitivan
- *Ureaplasma urealyticum* $\leq 10^3$, bez antibiograma

- *Ureaplasma urealyticum* $\geq 10^4$, s antibiogramom
- PCR na *Ureaplasma urealyticum* je pozitivan
- *Mycoplasma hominis* $\leq 10^3$, bez antibiograma
- *Mycoplasma hominis* $\geq 10^4$, s antibiogramom
- PCR na *Mycoplasma hominis* je pozitivan
- PCR na *Neisseria gonorrhoeae* je pozitivan

Nalaz mikroskopskog preparata: Broj polimorfonukleara, intracelularni diplokoki.

3.5. ENDOMETRITIS, SALPINGITIS, ZDJELIČNA UPALNA BOLEST

3.5.1. Etiologija

Gornji dijelovi ženskoga spolnog sustava su primarno sterilni. Endometritis je upala endometrija, a salpingitis je upala jajovoda. Zdjelična upalna bolest obuhvaća endometritis, salpingitis i peritonitis (6,10,16). Uzročnici endometritisa, salpingitisa i zdjelične upalne bolesti su: *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae*, beta hemolitički streptokoki, *S. aureus*, enterokoki, anaerobi, enterobakterije, *G. vaginalis*, *M. hominis* (10,12) i *M. genitalium*. Postpartalni endometritis i zdjelična upalna bolest su često polimikrobne etiologije (10). *H. influenzae* može biti uzročnik endometritisa (12) i zdjelične upalne bolesti (10). *M. tuberculosis* i HSV uzročnici su endometritisa (10) koji nisu obuhvaćeni ovim smjernicama.

3.5.2. Uzorci

- Uzorak je transvaginalni aspirat endometrija, laparoskopski uzet aspirat jajovoda, tuboovarijalnog apscesa i peritoneuma. Preporučuje se uzeti minimalno 1 ml uzorka (10).
- **Uzorci iz donjeg dijela spolnog sustava nisu pogodni za dijagnostiku infekcija gornjih dijelova ženskoga spolnog sustava!** (6)
- Kad postoje znakovi sepse uputno je uzeti i hemokulture.

Napomena: lako uzorci iz donjeg dijela ženskoga spolnog sustava nisu pogodni za dijagnostiku infekcija gornjeg, kod salpingitisa obrisak endocerviksa može biti koristan ali zahtjeva oprezniju interpretaciju (10).

3.5.3. Transport i pohrana

- Uzorak u sterilnoj posudi pri sobnoj temperaturi, u anaerobnim uvjetima, što prije dostaviti u laboratorij.
- Uzorak se u laboratoriju centrifugira (1 500 x G, 10 min), odlije se supernatant, ostavi se 0,5 ml sedimentiranog sadržaja u epruveti i resuspendira sediment, od kojeg se radi preparat i nasijava na krute (10) i tekuću podlogu.

3.5.4. Mikroskopski preparat

Gram preparat se radi od kapljice sedimenta.

Utvrdjuje se:

- Prisutnost polimorfonukleara
- Broj i vrsta bakterija
- Prisutnost intracelularnih diplokoka

3.5.5. Kultivacija i druge dijagnostičke metode

Tablica 22. Kultivacija aspirata jajovoda, endometrija i peritoneuma

Uzorak	Podloga	Inkubacija			Čitanje	Traženi mikroorganizmi
		Temp. (°C)	Atmosfera	Vrijeme		
Aspirati: jajovoda tubo-ovarijalnog apscesa endometrija peritoneuma	Krvni agar + Kromogena ploča	35-37	5-10% CO ₂	16-24 h	dnevno	<i>Streptococcus</i> gr. A, B, C i G <i>S. aureus</i>
	Tioglikolat bujon	35-37	aerobno	16-24 h	Supkultivacija: KA* Anerobna	<i>Enterococcus</i> spp. Enterobakterije
	Čokoladni agar	35-37	5-10% CO ₂	48-72 h	48 h	<i>N. gonorrhoeae</i> <i>H. influenzae</i>
	Anaerobna ploča	35-37	anaerobna	40-48 h	>40 h	anaerobi <i>G. vaginalis</i>

*Krvni agar

Za dijagnostiku bakterija koje se ne mogu ili se teško kultiviraju, a mogu biti uzročnici endometritisa, salpingitisa i zdjelične upalne bolesti (*C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae*, *Ureaplasma*, *Mycoplasma*) v. Tablicu 21.

3.5.5. Identifikacija patogena i testiranje osjetljivosti na antibiotike

- Identifikacija se provodi u skladu s laboratorijskim postupcima u svrhu identifikacije mikroorganizama.
- Testiranje osjetljivosti na antibiotike provodi se sukladno smjernicama Odbora u svrhu praćenja rezistencije bakterija na antibiotike AMZH-a i smjernicama EUCAST-a.

3.5.6. Izdavanje nalaza

Negativan nalaz:

- Sterilno.

Pozitivan nalaz:

- Mikroorganizam iz Tablice 22. s antibiogramom.
- Mikroorganizam iz Tablice 21.

Nalaz mikroskopskog preparata: Broj polimorfonukleara i mikroorganizama, intracelularni diplokoki.

3.6. INFEKCIJE BARTOLINIJEVE ŽLIJEZDE

3.6.1. Etiologija

Bartolinitis je upala Bartolinijeve žlijezde. Nakon opstrukcije odvodnog kanala te žlijezde nastaje cista, a potom apsces. Uzročnici su: *S. aureus*, beta hemolitički streptokoki, enterobakterije, *N. gonorrhoeae*, *H. Influenzae* i mikoplazme (10,12).

3.6.2. Uzorak

- Uzorak je aspirat odvodnog kanala Bartolinijeve žlijezde uzet nakon dekontaminacije kože kirurškim dezinfekcijskim sredstvom (12,15).

3.6.3. Transport i pohrana

- Uzorak u sterilnoj posudi pri sobnoj temperaturi, u anaerobnim uvjetima, što prije dostaviti u laboratorij.
- Uzorak se u laboratoriju centrifugira (1 500 x G, 10 min), odlije se supernatant, ostavi se 0,5 ml sedimentiranog sadržaja u epruveti i resuspendira sediment, od kojeg se radi preparat i nasijava na krute podloge (10).

3.6.4. Mikroskopski preparat

Gram preparat se radi od kapljice sedimenta.

Utvrđuje se:

- Prisutnost polimorfonukleara
- Broj i vrsta bakterija

3.6.5. Kultivacija i druge dijagnostičke metode

Tablica 23. Kultivacija aspirata Bartolinijeve žlijezde

Uzorak	Hranilište	Inkubacija			Čitanje	Traženi mikroorganizmi
		Temp. (°C)	Atmosfera	Vrijeme		
Aspirat Bartolinijeve žlijezde	Krvni agar + Kromogena ploča	35-37	5-10% CO ₂	40-48 h	dnevno	<i>S. aureus</i> <i>Streptococcus</i> spp. Enterobakterije
	Čokoladni agar	35-37	5-10% CO ₂	40-72 h	>40 h	<i>N. gonorrhoeae</i> <i>H. influenzae</i>
	Anaerobna ploča	35-37	anaerobna	40-48 h	>40 h	anaerobi

Za dijagnostiku bakterija koje se ne mogu ili se teško kultiviraju a mogu biti uzročnici bartolinitisa (*C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae*, *Ureaplasma*, *Mycoplasma*) v. Tablicu 21.

3.6.6. Identifikacija patogena i testiranje osjetljivosti na antibiotike

- Identifikacija se provodi u skladu s laboratorijskim postupcima u svrhu identifikacije mikroorganizama.
- Testiranje osjetljivosti na antibiotike provodi se sukladno smjernicama Odbora u svrhu praćenja rezistencije bakterija na antibiotike AMZH-a i smjernicama EUCAST-a.

3.6.7. Izdavanje nalaza

Negativan nalaz:

- Klinički značajan mikroorganizam nije izoliran.
- Normalna mikrobiota ženskoga spolnog sustava.
- Sterilno.

Pozitivan nalaz:

- Mikroorganizam iz Tablice 23. s antibiogramom
- Mikroorganizam iz Tablice 21.

Nalaz mikroskopskog preparata: Broj polimorfonukleara i mikroorganizama, intracelularni diplokokci.

LITERATURA

1. Gov.uk [Internet]. London: UK Government; [citirano 4.5.2015.]. UK Standards for Microbiology Investigations SMB 41: Investigation of urine. Dostupno na: <https://www.gov.uk/government/publications/smi-b-41-investigation-of-urine>
2. Cavallo JD, Tenke P. Urinary tract infections. U: Cornaglia G, Courcol R, Herrmann JL, Gunnar Kahlmeter G, ur. European manual of clinical microbiology. Epernay: European Society for Clinical Microbiology and Infectious Diseases; 2012, str. 133-43.
3. Pezzlo M, York MK. Urine cultures. U: Isenberg HD, ur. Clinical microbiology procedures handbook. 2. izd. Washington: ASM Press; 2004, str. 3.12.1 – 5.
4. ISKRA Interdisciplinarna sekcija za kontrolu rezistencije na antibiotike [Internet]. Zagreb: ISKRA; c2008 [citirano 4.5.2015.]. Smjernice antimikrobnog liječenja i profilakse infekcija mokraćnog sustava. Dostupno na: <http://iskra.bfm.hr/hrv/guidelinesarticle.aspx?id=62>
5. European Association of Urology [Internet]. Arnhem: The Association; c2016 [citirano 12.5.2015.]. Urological Infections: Guidelines. Dostupno na: <http://uroweb.org/guideline/urological-infections/>
6. de Barbeyrac B, Skov-Jensen J. Sexually transmitted infections. U: Cornaglia G, Courcol R, Herrmann JL, Gunnar Kahlmeter G, ur. European manual of clinical microbiology. Epernay: European Society for Clinical Microbiology and Infectious Diseases; 2012, str. 181-95.
7. Škerk V. Liječenje bolesnika sa sindromom prostatitisa. Medicus 2012; 21: 61-6.
8. Scheifer HG, Graevenitz A. Clinical microbiology. U: Schill W-B, Comhaire FH, Hargreave TB, ur. Andrology for the clinician. Heidelberg: SpringerLink; 2006, str. 401-7.
9. Sharp JV, Takacs EB. Prostatitis: diagnosis and treatment. Am Fam Physician 2010; 82:397-406.
10. Gov.uk [Internet]. London: UK Government; [citirano 1.5.2015.]. UK Standards for microbiology investigations B 28: Investigation of genital tract and associated specimens. Dostupno na: <https://www.gov.uk/government/publications/smi-b-28-investigation-of-genital-tract-and-associated-specimens>
11. College of Physicians & Surgeons of Saskatchewan [Internet]. Saskatoon: The College; c2013 [citirano 1.5.2015.]. Laboratory quality assurance program. Dostupno na: http://www.cps.sk.ca/CPSS/Programs_and_Services/Laboratory_Quality_Assurance.aspx?LabQualityCCO=Laboratory Quality Assurance Program Overview
12. Isenberg HD. Clinical microbiology procedures handbook. Washington D.C.: American Society for Microbiology; 2004, str. 3.2.1 – 23, 3.9.1 – 14, 3.9.2 – 5, 3.15.1 – 12.
13. Centers for Disease Control and Prevention. Prevention of perinatal group B streptococcal disease. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2002; 51:1-22.
14. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. Principles and practice of infectious diseases. 5. izd. Philadelphia (Pennsylvania): Churchill Livingstone; 2000.
15. WakeMed [Internet]. Raleigh, NC: WakeMed Health and Hospitals; [citirano 3.5.2015.]. Microbiology collection guidelines. Dostupno na: <http://www.wakemed.org/body.cfm?id=237>
16. Karelović D i sur. Infekcije u ginekologiji i perinatologiji. Zagreb: Medicinska naklada; 2012.
17. Shipitsyna E, Savicheva A, Sokolovsky E, Ballard RC, Domeika M, Unemo M, et al. Guidelines for the laboratory diagnosis of *Mycoplasma genitalium* infections in East European countries. Acta Derm Venerol 2010; 90:461-7.
18. McGowin CL, Anderson-Smits C. *Mycoplasma genitalium*: an emerging cause of sexually transmitted disease in women. PloS Patog 2011;7:e1001324.
19. Aspevall O, Hallander H, Gant V, Kouri T. European guidelines for urinalysis: a collaborative document produced by European clinical microbiologist and clinical chemists under ECLM (European Confederation of Laboratory Medicine) in collaboration with ESCMID (European Society for Clinical Microbiology and Infectious Diseases). Clin Microbiol Infect 2001; 7: 173-8.
20. Burd EM, Kehl KS. A critical appraisal of the role of the clinical microbiology laboratory in the diagnosis of urinary tract infection. J Clin Microbiol 2011; 49: S34-S38.
21. Nicolle LE, Bradley S, Colgan R, Rice JC, Schaeffer A, Hooton TM, et al. Infectious Diseases Society of America guidelines for the diagnosis and treatment of asymptomatic bacteriuria in adults. Clin Infect Dis 2005;40:643-654. Erratum u: Clin Infect Dis. 2005;40:1556.
22. Clarridge JE, Pezzlo MT, Vosti KL. Laboratory diagnosis of urinary tract infections. Cumitech 1987;1-15.
23. Pezzlo M, York MK. Urine cultures. U: Isenberg HD, ur. Clinical microbiology procedures handbook. 2. izd. Washington: ASM Press; 2004, str. 3.12.5 – 27.

24. Borchardt KA, Zhang MZ, Shing H, Flink KA. Comparison of the sensitivity of the InPouch TV, Diamond's, and Trichosel media for detection of *Trichomonas vaginalis*. *Genitourin Med* 1997;73:297-8.
25. Edwin M, Meares JR. Prostatitis: Diagnosis, aetiology and management. U: Brumfitt W, Hamilton-Miller JMT, Bailey RR, ur. *Urinary tract infections*. London: Chapman and Hall; 1998, str. 217-28.
26. Guidelines for performance of genital cultures. U: Garcia LS, Isenberg HD, ur. *Clinical microbiology procedures handbook*. 2. nadopunjeno izd. Washington: ASM Press; 2007, str. 3.9.1.1 – 16.
27. Parasite Culture: InPouch TV System for *Trichomonas vaginalis*. U: Garcia LS, Isenberg HD, ur. *Clinical microbiology procedures handbook*. 2. nadopunjeno izd. Washington: ASM Press; 2007, str. 9.9.4.1. – 4.
28. Weidner W, Diemer Th, Huwe P, Rainer H, Ludwig M. The role of *Chlamydia trachomatis* in prostatitis. *Int J of Antimicrobial Agents* 2002;19:466-70.
29. Horner P, Blee K, O'Mahony C, Muir P, Evans C, Radcliffe K; Clinical Effectiveness Group of the British Association for Sexual Health and HIV. 2015 UK national guideline on the management of non-gonococcal urethritis. *Int J STD AIDS*. 2016;27:85-96.
30. Rees J, Abrahams M, Doble A, Cooper A; Prostatitis Expert Reference Group (PERG). Diagnosis and treatment of chronic bacterial prostatitis and chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome: a consensus guideline. *BJU Int*. 2015;116:509-25.
31. Schaeffer AJ. Clinical practice. Chronic prostatitis and chronic pelvic pain syndrome. *N Engl J Med*. 2006;355:1690-8.
32. Thomas L. Erythrocytes, leukocytes, and casts in the urine. U: Thomas L, ur. *Clinical laboratory diagnostics: use and assessment of clinical laboratory results*. Frankfurt am Main: TH-Books; 1998, str. 377-82.
33. Weidner W, Schiefer HG, Krauss H, et al. Chronic prostatitis: a thorough search for etiologically involved microorganisms in 1,461 patients. *Infection*. 1991;19 Suppl 3:119-125.
34. Wagenlehner FME, Naber KG, Bschiepfer T, Brähler E, Weidner W. Prostatitis and male pelvic pain syndrome: diagnosis and treatment. *Dtsch Arztebl Int* 2009;106:175-83.
35. Meares EM, Stamey TA. Bacteriologic localization patterns in bacterial prostatitis and urethritis. *Invest Urol*. 1968;5:492-518.
36. Nickel JC. The pre and post massage test (PPMT): a simple screen for prostatitis. *Tech Urol*. 1997;3:38-43.
37. UpToDate [Internet]. Waltham, MA: UpToDate; c2016. Chronic bacterial prostatitis [citirano 22.5.2015.]. Dostupno na: http://www.uptodate.com/contents/chronic-bacterial-prostatitis?source=search_result&search=Chronic+bacterial+prostatitis&selectedTitle=1%7E150
38. Hrvatska komora medicinskih biokemičara, Zavod za kliničku kemiju KB „Merkur“. Harmonizacija laboratorijskih nalaza u području opće medicinske biokemije [Internet]. Zagreb; 2004 [citirano 22.5.2015.]. Dostupno na: www.hkmb.hr/obavijesti/aktualno/Harmonizacija%20laboratorijskih%20nalaza.doc
39. Sikirica M, Bobetić Vranić T. Analitička procjena automatskog mikroskopskog analizatora IRIS iQ200 u kvalitetnoj analizi mokraće. *Biochem Med* 2004;14:83-90.
40. UpToDate [Internet]. Waltham, MA: UpToDate; c2016. Urethritis in adult men [citirano 22.5.2015.]. Dostupno na: http://www.uptodate.com/contents/urethritis-in-adult-men?source=search_result&search=urethritis+in+adult+men&selectedTitle=1%7E150
41. Bradshaw CS, Tabrizi SN, Read TR, Garland SM, Hopkins CA, Moss LM, et al. Etiologies of nongonococcal urethritis: bacteria, virusis, and the association with orogenital exposure. *J Infect Dis* 2006;193:336-45.
42. Ison CA, Hay PE. Validation of a simplified grading of Gram stained vaginal smears for use in genitourinary medicine clinics. *Sex Transm Infect* 2002; 78:413-5.
43. Papp JR, Schachter J, Gaydos CA, van der Pol B. Recommendations for the laboratory-based detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* – 2014. *Morbidity and Mortality Weekly Report (MMWR)* 2014/63(RR02);1-19.
44. Wynn JL, Tan S, Gantz MG, Das A, Goldberg RN, Adams-Chapman I, Stoll BJ, Shankaran S, Walsh MC, Auten KJ, Miller NA, Sanchez PJ, Higgins R, Cotton CM, Smith PB, Benjamin Jr DK, NICHD Neonatal Research Network. Outcomes following candiduria in extremely low birth weight infants. *Clinical Infectious Diseases* 2012;54(3):331-9.
45. European Urinalysis Guidelines, *Scand J Clin Lab Invest* 2000; 60: 1-96.
46. <http://www.icid.salisbury.nhs.uk/ClinicalManagement/GeneralSurgery/Documents/urine%20sample%20urostomy%20PI1245.pdf>