

Nastavni zavod za javno zdravstvo Splitsko-dalmatinske županije
Odjel za molekularnu dijagnostiku
Vukovarska 46, 21000 Split
Tel.: 021/ 401 122

Upute za uzimanje uzoraka za otkrivanje spolno prenosivih bolesti (SPB) metodom *RealTime PCR* (multipleks)

1. Multiplex PCR – molekularna metoda u kojoj se iz jednog uzorka može otkriti DNK više različitih mikroorganizama.

Moguće je zatražiti:

1.1. Multipleks PCR SPB 4

Obuhvaća istovremenu detekciju 4 najčešća patogena u obradi cervicitisa i uretritisa (*Chlamydia trachomatis* (CT), *Mycoplasma genitalium* (MG), *Mycoplasma hominis* / *Ureaplasma urealyticum* (Mh / Uu)).

Ovom metodom može se razlučiti *U. urealyticum* od apatogene *U. parvum* što dosadašnjom metodom kultivacije nije bilo moguće.

1.2. Multipleks PCR SPB 4 + NG i/ili + TV

Uz SPB 4, dodatno *Neisseria gonorrhoeae* (NG) i /ili *Trichomonas vaginalis* (TV), prema kliničkoj indikaciji

1.3. PCR pojedinačno za svakog od navedenih uzročnika:

Chlamydia trachomatis (CT),

Mycoplasma genitalium (MG),

Mycoplasma hominis / *Ureaplasma urealyticum* (Mh / Uu)

Neisseria gonorrhoeae (NG)

Trichomonas vaginalis (TV)

Napomene:

- ako je PCR na Mh / Uu negativan ili je količina bakterija $<10^3$, rezultat PCR-a je konačan rezultat
- ako je PCR na Mh / Uu pozitivan u količini $>10^4$, uzorak se dalje kultivira, te slijedi naknadno još jedan nalaz s kvantifikacijom bakterija i rezultatom osjetljivosti na antibiotike
- ako je PCR na MG pozitivan, pratit će ga rezultat osjetljivosti na makrolide i fluorokinolone
- ako je PCR na NG pozitivan, pratit će ga rezultat osjetljivosti na ceftriakson

UZORAK: obrisak vrata maternice, rodnice, uretre,
prvi mlaz urina (prvih 20 ml) u muškaraca i žena,
obrisak usne šupljine, rektuma, konjunktive, kožne lezije

TRANSPORTNI MEDIJ

Odgovarajući pribor (medij) za uzorkovanje treba zatražiti od laboratorija.

- 1. Za sve vrste obrisaka** multipleks PCR može se napraviti iz:
 - *eNAT* medija (transport **do tjedan dana** na temperaturi **2 - 25 °C**)
 - medija za tekućinsku citologiju:
 - *ThinPrep* ili *CellPreserve* (transport **do 90 dana** na temperaturi **2 - 25 °C**)
 - *SurePath* (transport **do 2 tjedna** na temperaturi **2 - 8 °C**)
- 2. Urin:** sterilna bočica za uzimanje uzorka urina (prvih 20 ml)
(transport **do 2h** na **25 °C** ili **do 24h** na **2 - 8 °C**)



VAŽNO: iz istog uzorka brisa u transportnom mediju za molekularnu dijagnostiku (npr. *eNAT*) može se napraviti: i multipleks SPB i HPV.

Napomene:

1. Uzorkovati obrisak za PAPA test **prije** uzimanja uzorka za DNK testiranje.
2. Uzorkovati obrisak za DNK testiranje **prije** premazivanja octenom kiselinom ili jodom, ako se radi kolposkopija.
3. Za uzorkovanje i transport koristiti transportne komercijalne podloge za koje treba kontaktirati laboratorij Službe za kliničku mikrobiologiju
4. Medije za uzorkovanje do upotrebe čuvati na sobnoj temperaturi i ne koristiti ih nakon isteka roka trajanja.

UZORKOVANJE OBRISKA CERVIKSA:

- Ako postoji **sluzni čep** u cerviksu, **odstraniti ga** brisom kojeg treba odbaciti.
- Uvesti novi bris (iz seta za uzorkovanje) **1 - 1,5 cm** u endocervikalni kanal (vidi sliku).
- **Rotirati bris 5 puta u jednom smjeru** kako bi sakupili dovoljno epitelnih stanica.
- Izvući bris bez dodirivanja vaginalnoga zida.
- Staviti bris u dno transportne epruvete i prelomiti štapić brisa na označenom mjestu
- **Ostaviti bris u epruveti** i zatvoriti epruvetu.
- **Obilježiti epruvetu:** ime i prezime pacijenta.

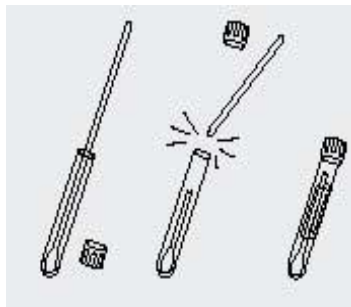
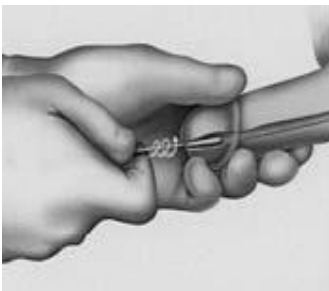


UZORKOVANJE OBRISKA RODNICE:

- Obrisak rodnice uzima se prije uporabe lubrikanta.
- Lagano uvesti bris u rodnicu za oko 5 cm i rotirati bris 10 - 15 sekundi.
- Polagano izvući bris.
- Staviti bris u dno transportne epruvete i prelomiti štapić brisa na označenom mjestu
- **Ostaviti bris u epruveti** i zatvoriti epruvetu.
- **Obilježiti epruvetu:** ime i prezime pacijenta.

UZORKOVANJE OBRISKA URETRE:

- Ne mokriti najmanje 2 sata prije uzorkovanja.
- Uvesti bris (iz seta za uzorkovanje) 2 - 4 cm u uretru (vidi sliku).
- Rotirati bris 2 - 3 sekunde kako bi sakupili dovoljno epitelnih stanica.
- Polagano izvući bris.
- Staviti bris u dno transportne epruvete i prelomiti štap brisa na označenom mjestu.
- Ostaviti bris u epruveti i zatvoriti epruvetu.
- Obilježiti epruvetu: ime i prezime pacijenta.



UZIMANJE UZORKA PRVOG MLAZA URINA:

- Ne mokriti najmanje 2 sata prije uzorkovanja.
- Koristiti sterilnu bočicu za uzimanje uzorka urina.
- Uzeti **prvi mlaz** urina (prvih 20 ml urina) – do oznake.
- Uzorak donijeti u laboratorij unutar 2h na 25 °C ili unutar 24h na 2 - 8 °C.

