

Priprema uzorka za dokazivanje specifičnih anti- *Candida* At i *Candida* Ag i specifičnih anti- *Aspergillus* At i *Aspergillus* Ag

Marija Živković, laboratorijski tehničar
Institut za mikrobiologiju i imunologiju
Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu

“DIJAGNOZA GLJIVIČNIH INFEKCIJA – OD UZORKA DO REZULTATA”

Edukacija za medicinske sestre i zdravstvene tehničare

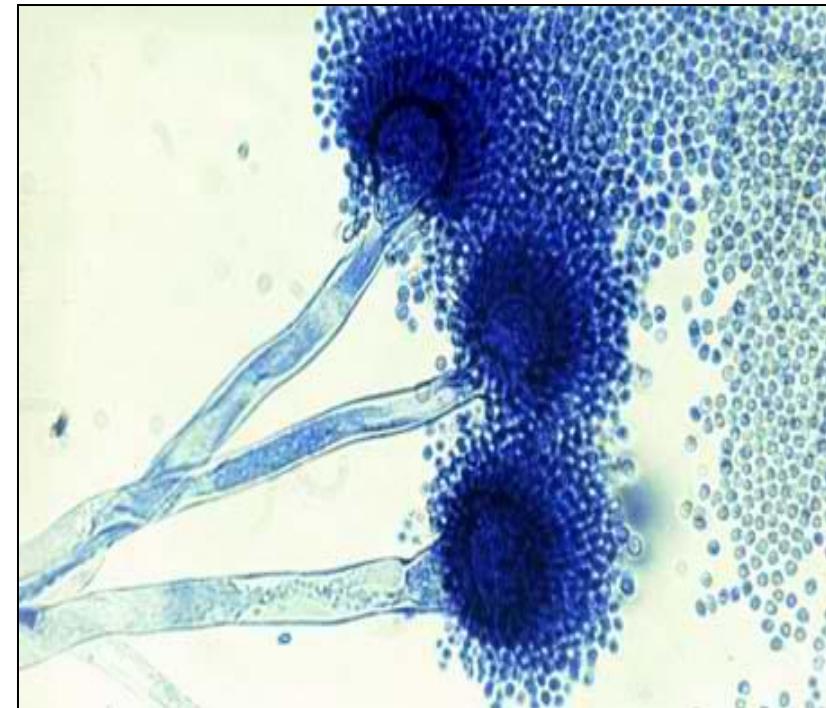
Crowne Plaza BEOGRAD, 13.03.2015.

Najčešći uzročnici sistemskih gljivičnih oboljenja

Candida albicans



Aspergillus fumigatus



Vrste testova

- *C. albicans* IgM
- *C. albicans* IgG
- *C. albicans* Ag
- *A. fumigatus* IgM
- *A. fumigatus* IgG
- *A. fumigatus* Ag



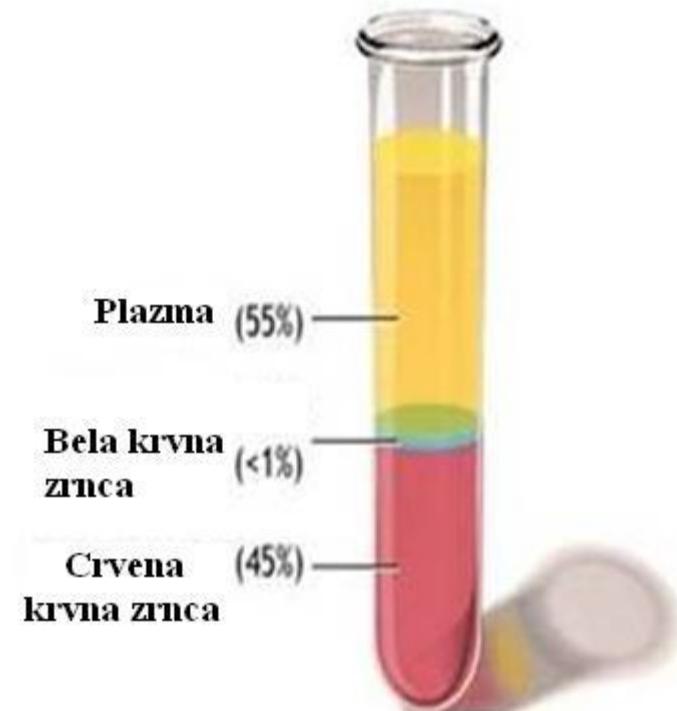
Uzorci pacijenata

- Krv
- Serum
- Likvor
- BAL
- Indukovani sputum
- Aspirat



Količina uzorka - odrasli

- Krv 4-5ml
- Serum 1.5-2ml
- BAL 4-5ml
- Indukovani sputum 4-5ml



Uvođenje uzorka

- Ime, prezime, identifikacioni broj, datum rođenja
- Unošenje podataka u protokole laboratorije
- Obeležavanje uzorka brojem iz protokola



Obrada uzorka/centrifugiranje

Krv

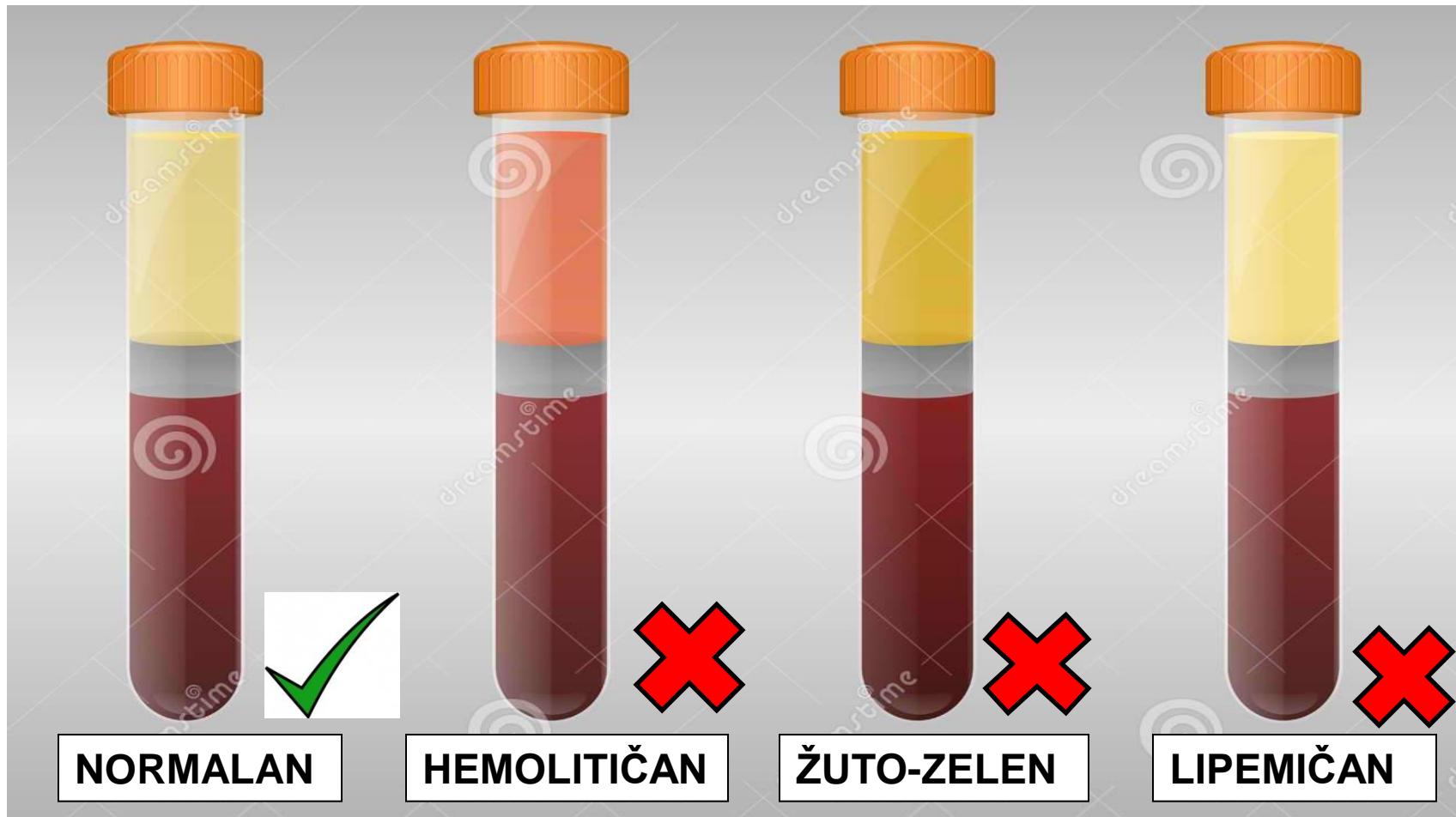
- 5min/2500
obrtaja



BAL/sputum

- 10min/2500
obrtaja

Selekcija reprezentativnog uzorka



NORMALAN

HEMOLITIČAN

ŽUTO-ZELEN

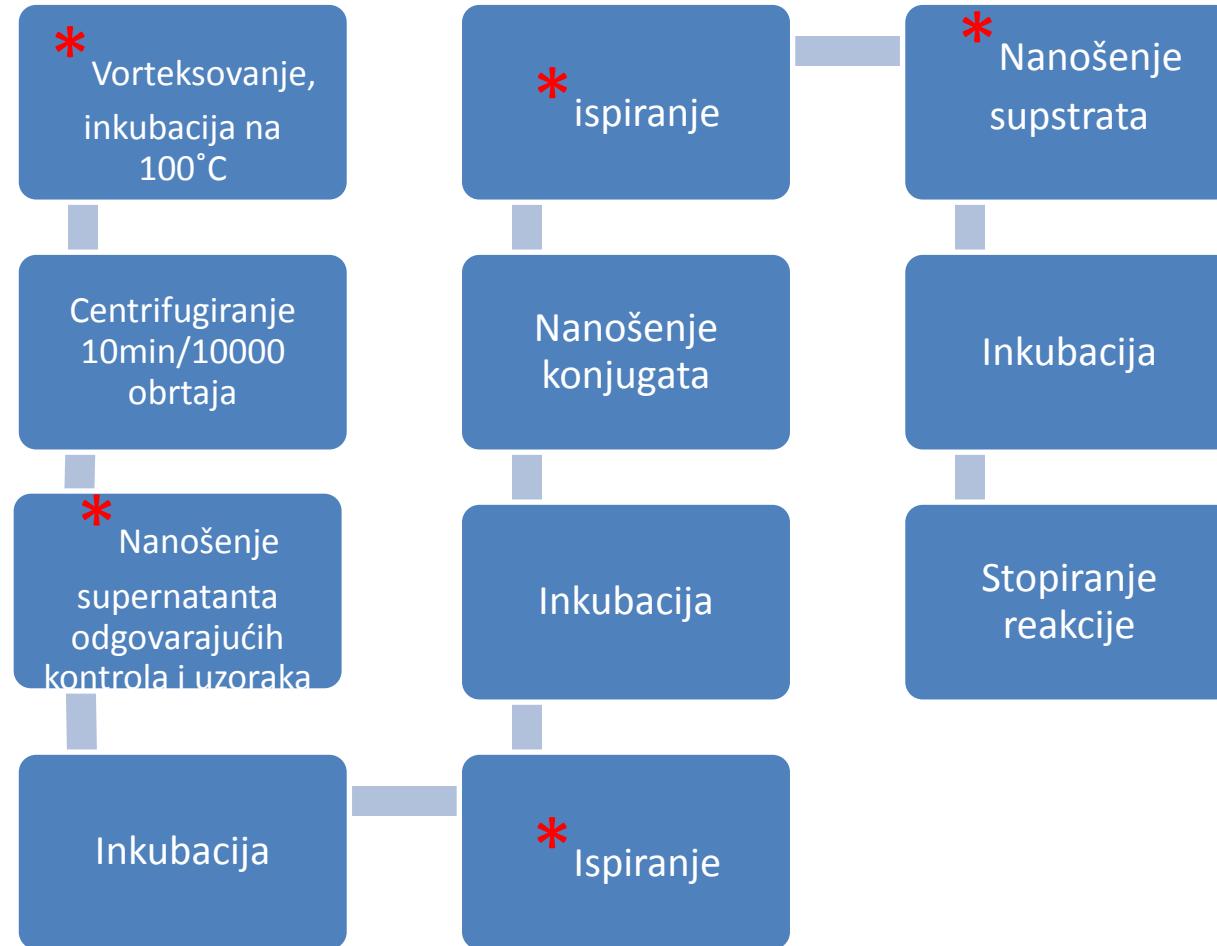
LIPEMIČAN

Pravilan rad sa uzorcima

- Komora za sterilan rad
- Sterilne ependorff epruvete obeležene odgovarajućim brojem
- Sterilni nastavci



Procedura ELISA testa za At/Ag



*** Kritične tačke procedure**

Problemi/greške ELISA testa za At/Ag

- Korišćenje nedestilovane vode
- Nesterilni uslovi za rad (komora za sterilan rad!!)
- Kontaminirane pipete
- Nesterilni nastavci
- Loše ispiranje
- Producetak inkubacije

Validacija testa



- Pozitivna kontrola
- Negativna kontrola
- Eksterna kontrola*



Produžena inkubacija
Kontaminacija
Lažno pozitivan rezultat

Očitavanje testa

- ELISA čitač
- Filter 405/620
- Filter 450/620
- Štampanje očitanih vrednosti



Plava boja – pozitivan uzorak i pozitivna kontrola
Žuta boja – negativan uzorak i negativna kontrola

Izdavanje rezultata

- Izračunavanje očitanih vrednosti
- Validacija (kontrola +/-)
- Razvođenje rezultata (elektronski/protokol)
- Monitoring pacijenata i izdavanje rezultata
- Interpretaciju rezultata vrši lekar

Verovatna invazivna gljivična infekcija:

- ✓ Dva uzasopno pozitivna nalaza manana ili galaktomanana
- ✓ Pozitvna antigljivična At (IgG) u visokom titru
- ✓ Serokonverzija gljivičnih Ag i/ili antitela At

Značaj ELISA dijagnostike

- Brza i jednostavna dijagnostika
- Pravovremeno započinjanje adekvatne terapije
- Screening / Praćenje razvoja bolesti