

## **ZAVOD ZA JAVNO ZDRAVLJE PIROT-UPUTSTVO ZA UZIMANJE, ČUVANJE I TRANSPORT BOLESNIČKIH UZORAKA ZA MIKROBIOLOŠKU ANALIZU**

**Na svim uputima ( Uput za mikrobiološko ispitivanje , obrazac 1 ) obavezno navesti :**

- Zdravstvena ustanova koja šalje materijal, odeljenje
  - Podaci o pacijentu ( ime i prezime, godina rođenja, br. zdravstvene kartice, JMBG, LBO )
  - Dijagnoza na latinskom i MKB šifra
  - Vrstu uzorka koji se šalje na analizu
  - Vrstu traženog pregleda ( bakteriološki, mikološki, virusološki, parazitološki, serološki )
  - Vrstu analize
  - Datum i vreme uzimanja uzorka
  - Da li pacijent prima medikamentoznu terapiju, navesti vrstu leka i datum početka th.
  - Potpis i pečat nadležnog lekara
- Prilikom uzimanja uzoraka za mikrobiološku analizu potrebno je pridržavati se opštih mera zaštite od infekcije. Svaki materijal potrebno je tretirati kao potencijalno infektivan**
- Ukoliko je moguće uzorak uzeti pre primene antibiotske terapije
  - Na posudi sa uzorkom nalepiti etiketu sa podacima o pacijentu ( ime i prezime, datum i vreme uzimanja uzorka, vrsta analize koja se traži, odeljenje koje šalje uzorak )
  - Nikad ne stavljati u frižider na +4° C likvor, uzorke iz genitalnog trakta, uzorke iz oka i srednjeg uha, hemokulture
  - Posude u kojima se nalazi infektivni materijal moraju biti dobro i bezbedno zatvorene i propisno zapakovane u plastične kese ili sekundarne kontejnere
  - Svaki uzorak koji se šalje na analizu mora biti propraćen pravilno popunjениm uputom
  - Preporučuje se da uput bude odvojen od uzorka i ako je to moguće u plastičnoj foliji

## Uzorci iz primarno sterilnih regija i rane

UZORAK	Posuda	Uzimanje materijala	Transport	Čuvanje (samo ako transport nije moguć odmah)	Očekivani patogeni / Vreme izdavanja nalaza
Krv (hemokultura )	1 uzorak ( set ) čine aerobna ( AE ) +anaerobna ( AN ) bočica sa bujom za hemokulturu ili jedna pedijatrijska bočica. Uzeti najmanje 2 seta.  Odrasli 8-10 ml po bočici  Deca 1-5 ml po bočici ( pedijatrijske )	Pre venepunkcije kožu dezinfikovati 70% alkoholom . Pomoću tupfera koncentrično, počevši iz sredine, prebrisati mesto jodnim preparatom. Pričekati da se osuši.Uzeti krv bebi sistemom ( blood collection set ). Jod očistiti alkoholom.  U akutnoj sepsi uzeti 2-3 seta sa različitih mesta unutar 10 min (pre početka antimikrobne terapije).	≤ 2 h/ ST	ST ili na 35° C do 24 h	<b>Bilo koja vrsta bakterija i gljiva / ( sa AB )</b>  Pozitivni rezultati se javljaju telefonom odeljenjskom lekaru (preliminarni i definitivni)  Negativan rezultat izdaje se za 5-6 dana
Kateteri (intravenski)	Sterilna epruveta ili sterilna plastična posuda sa poklopcom	Dezinifikovati kožu pre vađenja (70% alkohol)  Vrh i.v. katetera odseći sterilnim makazama dužine 4 cm i poslati	≤ 2 h/ST	+4° C / 24 h	<b>Bilo koja vrsta bakterija i gljiva/ 2-5 dana ( sa AB )</b>
Telesne tečnosti (sinovijalna, pleuralna, peritonealna, amnionska, ascit, i td. )	Sterilna epruveta sa poklopcom, sadržaj u špricu sa poklopcom Izuzetno, ako uzorka ima malo 1 – 3 ml, može se inokulisati u bočicu za hemokult. ( pedijatrijska)	Dezinifikovati kožu pre aspiriranja (70% alkohol)	≤ 2 h/ST	ST / 24 h  inokulisana bočica za hemokulturu ( pedijatrijska ) na ST do 36 h	<b>Bilo koja vrsta bakterija i gljiva /2-5 dana( sa AB )</b>
Likvor	Sterilna epruveta s navojem (1-2ml) Bočice za hemokulturu (pedijatrijske) - popodne, noću i vikendom. za AAR bacile do 5 ml ( lab. Za TBC )	Dezinifikovati kožu pre aspiriranja (70% alkohol).	ODMAH SE DONOSI U LABORATO- RIJU	Ako nije moguće odmah dostaviti čuvati na ST do 24 h	<b>Bilo koja vrsta bakterija i gljiva/2- 5 dana( sa AB )</b>  Pozitivni rezultati se javljaju telefonom (preliminarni i definitivni)

Aspirat (bris) duboke rane, apscesa, fistule, intraoperativni uzorci	Aspirat poslati u sterilnoj epruveti ili špricu  Bris je loš uzorak, ali ako se uzima koristiti transportni medijum	Dezinifikovati kožu pre aspiriranja (70% alkohol). Aspirirati duboko u otvorenu ranu, najbolje s dna ili zida apsesa ili uzeti komad tkiva. Tkivo ili tečnost su bolji uzorci od brisa.  U slučaju male količine aspiriranog materijala uliti u bočicu za hemokulturu ( pedijatrijska )	$\leq 2$ h/ST	ST / 24 h  Dostaviti u transportnoj podlozi	<b>Bilo koja vrsta bakterija i gljiva/2-5 dana( sa AB )</b>
Bris površinske rane ili kožne promene	Bris u sterilnoj epruveti		$\leq 2$ h/ST	ST / 24 h  Dostaviti u transportnoj podlozi	<b>Bilo koja vrsta bakterija i gljiva/ 2-5 dana ( sa AB )</b>

## Uzorci iz respiratornog trakta

UZORAK	Posuda	Uzimanje materijala	Transport (odmah po uzimanju)	Čuvanje (samo ako transport nije moguć odmah)	Očekivani patogeni / vreme izdavanja nalaza
Aspirat ili bris srednjeg uva	Sterilna posuda sa navojem ili sadržaj u špricu ili bris u sterilnoj epruveti	Uzorak uzeti samo ako uvo curi ili je uradjena timpanocenteza	≤ 2 h/ST	ST / 24 h Dostaviti u transportnoj podlozi	<b>Bilo koja vrsta bakterija i gljiva/ 2-5 dana( sa AB )</b>
Bris spoljašnjeg ušnog kanala	Bris u sterilnoj epruveti	Bris koji je navlažen sterilnim fiziološkim rastvorom pažljivo rotirati u spoljašnjem ušnom kanalu.	≤ 2 h/ST	ST / 24 h Dostaviti u transportnoj podlozi	<b>Bilo koja vrsta bakterija i gljiva /2-5 dana( sa AB )</b>  Saprofitne bakterije sa kože se ne izdaju
Bris konjunktive oka	Bris u sterilnoj epruveti	Pažljivo kažiprstom povući donji kapak tako da se otkrije konjuktiva. Brisom koji je navlažen sterilnim fiziološkim rastvorom uzeti uzorak pazeci da se ne dotakne koža	≤ 2 h/ST	ST / 24 h Dostaviti u transportnoj podlozi	<b>Bilo koja vrsta bakterija i gljiva/ 2-5 dana( sa AB )</b> Analiza ne uključuje <i>Chl. Trachomatis</i> <b>Saprofitne bakterije sa kože se ne izdaju</b>
Bris ždrela	Bris u sterilnoj epruveti	Sterilnim štapićem obrisati tonzile i zadnji zid farinksa, pazeci pritom da se ne dotakne jezik ili bukalna sluznica	≤ 2 h/ST	ST / 24 h Dostaviti u transportnoj podlozi	<b>BHS - A/ 2-4 dana( sa AB )</b>
Bris nosa	Bris u sterilnoj epruveti	Tankim sterilnim štapićem pažljivo uzeti bris sa sluzokože nosne duplje, što dublje uz blago rotiranje.	≤ 2 h/ST	ST / 24 h Dostaviti u transportnoj podlozi	<b><i>S.pneumoniae, H.influenzae, St.aureus M.catarrhalis, BHS-A/2-4 dana( sa AB )</i></b> Ako se traže neki drugi uzročnici ( <i>N. meningitidis</i> ) treba naznačiti na uputu. Svaki izolat mora se tumačiti u sklopu celokupne kliničke slike jer može biti samo kolonizat koji ne zahteva antibiotsku terapiju

Bris nosa na <i>Staphylococcus aureus</i> ili MRSA	Bris u sterilnoj epruveti		≤ 2 h/ST	ST / 24-48 h  Dostaviti u transportnoj podlozi	<i>Staphylococcus aureus,</i> <b>MRSA/ 2-4 dana( sa AB )</b>  Na uputu naznačiti da li se traži detekcija stafilokoknog kliconoštva ili se radi o rani unutar nosnog hodnika
Sputum ( Iskašljaj )  Detekcija AAR bacila-laboratorija za TBC	Sterilna posuda sa poklopcom	Pre davanja sputuma pacijent treba isprati ("grgoriti") usta vodom i duboko se iskašljati u sterilnu posudu sa poklopcom	≤ 2 h/ST	+4°C / 24 h	<i>S.pneumoniae, H.influenzae,</i> <i>M.catarrhalis, BHS-A, S.aureus</i> <b>enterobakterije, Ps.aeruginosa,</b> <i>Burkholderia cepacia i dr.</i> (cistična fibroza)/ <b>2-4 dana( sa AB )</b>  Kvalitetnim uzorkom se smatra onaj iskašljaj u kojem ima puno (>25 u vidnom polju) polimorfonukleara i malo (<10 u vidnom polju) epitelnih ćelija Veliki broj epitelnih ćelija ukazuje da se radi o ispljuvku, a ne iskašljaju
Bronhoalveolarni lavat (BAL) Endotrahealni aspirat  detekcija AAR bacila – laboratorija za TBC	Sterilna posuda sa poklopcom	BAL se uzima tokom bronhoskopije  Endotrahealni aspirat se uzima preko sterilnog katetera	≤ 2 h/ST	+4°C / 24 sata	<b>Bilo koja vrsta bakterija i gljiva/ 2-5 dana ( sa AB )</b>  Osim fiziološke flore gornjeg respiratornog trakta

ST = sobna temperatura

## Uzorci iz gastrointestinalnog trakta

UZORAK	Posuda	Uzimanje materijala	Transport (odmah po uzimanju)	Čuvanje (samo ako transport nije moguć odmah)	Očekivani patogeni/ vreme izdavanja nalaza
Stolica ( koprokultura)  Optimalna su 3 uzorka	Čista, nepropusna posuda sa poklopcom	Dovoljno je kašičicom čepa uzeti oko 2-3 ml prolivaste stolice ili grumen veličine lešnika u slučaju formirane stolice	≤ 2 h/ST	+4°C / 24 sata	Rutinska obrada uključuje <b>salmonele, šigele, jersiniju i kampilobakter/ 2-5 dana</b>
Perianalni otisak	Otisak selotejpom na predmetnom staklu	Ne prati analnu regiju noć pre uzimanje otiska	ST	ST / 24h	<b>Jaja <i>Enterobius vermicularis</i>/izdaje se istog dana</b>
Stolica na kvasnice	Čista, nepropusna posuda sa poklopcom	Dovoljno je kašičicom čepa uzeti oko 2-3 ml prolivaste stolice ili grumen veličine lešnika u slučaju formirane stolice.	≤ 2 h/ST	+4°C / 24 h	<b>Kvasnice / 2-3 dana i duže pp ( identifikacija gljiva , antimikrogram )</b>  Obratiti pažnju da li je pacijent pre toga uzimao probiotik na bazi <i>Saccharomyces spp.</i> - (lažno pozitivan nalaz)
<i>Stolica na rotavirus i adenovirus (imunohromat.test)</i>	Čista, nepropusna posuda sa poklopcom	Dovoljno je kašičicom čepa uzeti oko 2-3ml prolivaste stolice	≤ 2 h/ST	+4°C/ 24h	<b>Rotavirus, adenovirus/ izdaje se istog dana</b>
<i>C. difficile</i> dokaz toksina A&B (imunohromat.test)	Čista, nepropusna posuda sa poklopcom	Dovoljno je kašičicom čepa uzeti oko 2-3ml prolivaste stolice  Testiranje formirane ili tvrde stolice nije preporučljivo (pacijent bi trebao imati ≥5 tečnih ili mekih stolica na dan)	≤1h ST !!!	1- 24h +4°C oprez- brz gubitak aktivnosti citotoksina!!! (lažno negativan rezultat)	<b>Toksigeni soj <i>C. difficile</i> /izdaje se istog dana</b>  U dečijem uzrastu česta je kolonizacija toksigenim sojevima
<i>Stolica na Helicobacter pylori Ag (imunohromat.test)</i>	Čista, nepropusna posuda sa poklopcom	Dovoljno je kašičicom čepa uzeti oko 2-3 ml prolivaste stolice ili grumen veličine lešnika u slučaju formirane stolice.	≤ 2 h/ST	+4°C/24 h	<b>Helicobacter pylori/ izdaje se istog dana</b>  <b>Ne preporučuje se izvođenje testa uz istvremenu primenu inhibitora protonskih pumpa ( potreban je prekid th. od 2 sedmice) i antibiotika (potreban je prekid th. od 4 sedmice)</b>

Stolica na ciste i jaja parazita  3 uzorka ( svaki drugi dan )	Čista, nepropusna posuda	Dovoljno je kašičicom čepa uzeti oko 1-2 g prolivaste stolice ili grumen veličine lešnika u slučaju formirane stolice.	ST	+4 <sup>0</sup> C / 24 sata	<b>Patogene protozoe i jaja parazita / izdaje se istog dana</b>

## Uzorci iz urogenitalnog trakta

UZORAK	Posuda	Uzimanje materijala	Transport (odmah po uzimanju)	Čuvanje (samo ako transport nije moguć odmah)	Očekivani patogeni/vreme izdavanja nalaza (kultivacija ne uključuje <i>M. tuberculosis</i> )
Urin- dobijen metodom srednjeg mlaza	Sterilna posuda sa poklopcom i/ili navojem  Prvi jutarnji urin ili urin nakon najmanje 4 h nemokrenja	Neposredno pre davanja uzorka urina obaviti intimnu higijenu sapunom i vodom. Prvi mlaz urina ispustiti, a srednji uhvatiti u sterilnu posudu.  Ne dodirivati otvor plastične posude niti unutrašnju stranu poklopca. Sterilnu posudu sa urinom dobro zatvoriti.	ST/ 2h	+4°C / 24 sata	U interpretaciji nalaza potrebno je uzeti u obzir biohemski nalaz urina i kliničku sliku.  Sterilan nalaz izdaje se nakon 24 h, nalaz sa AB nakon 2-3 dana
Urin- iz trajnog katetera	Sterilna posuda sa poklopcem i/ili navojem  Špric i igla	Najbolje uzeti urin iz novopostavljenog katetera. Nakon dezinfekcije 70% alkoholom spoljašnjeg dela katetera sterilnom iglom i špricem aspirirati 10 ml urina	ST/ 2h	+4°C / 24 sata	
Urin- dobijen pomoću vrećice kod dece	Sterilna vrećica za prikupljanje urina  Sterilna posuda sa poklopcem i/ili navojem	Oprati genitalno područje i ostaviti da se osuši. Staviti sterilnu vrećicu i sakupljeni urin preneti u sterilnu posudu	ST/ 2h	+4°C / 24 sata	
Urin na Trichomonas vaginalis	Sterilna posuda sa poklopcem i/ili navojem	Genitalije oprati sapunom i vodom  Prvi mlaz urina uhvatiti u sterilnu posudu	ST/ 1 h		<i>Trichomonas vaginalis</i> / Nalaz se izdaje istog dana

Bris cerviksa, vagine, vulve, bris uretre kod muškaraca	Bris u sterilnoj epruveti	<p>Bris cerviksa se uzima pri ginekološkom pregledu pod spekulomom – prvim brisom odstraniti sekret, a drugim brisom uzeti uzorak iz endocervikalnog kanala</p> <p>Bris uretre uzeti tankim sterilnim brisom ( rotirati bris 2-4 cm unutar lumena uretre )</p>	ST/ 2h	ST / 24 sata Dostaviti u transportnoj podlozi	<p><b><i>Staphylococcus aureus, BHS-A, Streptococcus gr.B, Candida spp./2-4 dana( sa AB )</i></b></p> <p>Detekcija <b><i>Gardnerella vaginalis</i></b> zasniva se na preparatu po Gramu u smislu detekcije bakterijske vaginoze</p> <p>Navedene bakterije se u genitalnom traktu nalaze i normalno kao deo fiziološke ili kolonizirajuće flore, ali kad se nađu kao dominantan izolat mogu biti povezani s određenim kliničkim simptomima</p> <p>Detekciju <b><i>Neisseria gonorrhoeae</i></b> treba posebno naznačiti na uputu</p>
Bris vagine i bris anorektalnog područja na BHS/B	Bris u sterilnoj epruveti		ST/ 2h	ST / 24 h Dostaviti u transportnoj podlozi	Ciljana analiza na <b>BHS/B</b> je indikovana kod trudnica pred porođaj (35. ned. trudnoće) / <b>2-4 dana</b>
Bris cerviksa, vagine, uretre na <i>N.gonorrhoeae</i>	Bris u sterilnoj epruveti		ST/ 2h	ST / 24h Dostaviti u transportnoj podlozi	<b><i>N. gonorrhoeae /2-4 dana</i></b>
Ejakulat ( spermokultura )	Sterilna posuda sa poklopcom i/ili navojem		ST/ 2h	ST / 24 h	<b>Bilo koja vrsta bakterija i gljiva / 2-4 dana</b>

Bris cerviksa, uretre, ejakulat, urin na <i>Mycoplasma hominis</i> i <i>Ureaplasma urealyticum</i>	Specijalne transportne podloge koje se dobijaju u laboratoriji	Bris uretre (tanki sterilni bris staviti 2-4 cm u lumen uretre, rotirati ga) ili bris cerviksa uroniti u transportnu podlogu i dobro protesti, potom bris odbaciti, a podlogu dostaviti u laboratoriju	ST/ 2h	ST / 24 h	<b><i>Mycoplasma hominis</i> i <i>Ureaplasma urealyticum</i> /2-4 dana</b> mogu predstavljati saprofitnu floru. Nalaz ovih bakterija u količini $\geq 10^4$ CFU/ml govori u prilog infekciji i izdaje se sa antibiogramom

ST = sobna temperatura

## Uzorci sa kože

UZORAK	Posuda	Uzimanje materijala	Transport (odmah po uzimanju)	Čuvanje (samo ako transport nije moguć odmah)	Očekivani patogeni II/ vreme izdavanja nalaza
Skraping kože, nokta ili dlake na dermatofite	Sterilna posuda sa poklopcom	Uzorak uzeti sa ruba lezije. Kod uzimanja uzorka nokta površinske strugotine odbaciti a uzorak uzeti iz dubljih delova obolelog nokta.jj Promena ne treba da bude lokalno tretirana antimikoticima najmanje 7 dana pre uzimanja materijala	ST	ST / 24 sata	Dermatofiti ( <i>Trichophyton</i> , <i>Microsporum</i> , <i>Epidermophyton</i> )/ do 3 nedelje za negativan nalaz.

## Serologija

Naziv analize	Uzorak	Metoda	Uzimanje materijala	Transport i čuvanje	Izdavanje nalaza
RF	serum	Latex aglutinaconi test	Uzeti 3-5 ml krvi natašte u epruvetu bez antikoagulansa	+4°C/ 72h	istog dana
Waaler Rose	serum	Hemaglutinacija	Uzeti 3-5 ml krvi natašte u epruvetu bez antikoagulansa	+4°C/ 72h	istog dana
AST	serum	Latex aglutinaconi test	Uzeti 3-5 ml krvi natašte u epruvetu bez antikoagulansa	+4°C/ 72h	istog dana
CRP	serum	Latex aglutinaconi test	Uzeti 3-5 ml krvi natašte u epruvetu bez antikoagulansa	+4°C/ 72h	istog dana
RPR	serum	Mikroflokulacija	Uzeti 3-5 ml krvi natašte u epruvetu bez antikoagulansa	+4°C/ 72h	do 7 dana
TPHA	serum	Hemaglutinacija	Uzeti 3-5 ml krvi natašte u epruvetu bez antikoagulansa	+4°C/ 24h	do 7 dana
PAUL BUNNEL	serum	Latex aglutinaconi test	Uzeti 3-5 ml krvi natašte u epruvetu bez antikoagulansa	+4°C/ 72h	istog dana

Naziv analize	Uzorak	Metoda	Uzimanje materijala	Transport i čuvanje	Izdavanje nalaza
HBS Ag	serum	ELISA	Uzeti 3-5 ml krvi natašte u epruvetu bez antikoagulansa	+4°C/ 72h	do 7 dana
HCV	serum	ELISA	Uzeti 3-5 ml krvi natašte u epruvetu bez antikoagulansa	+4°C/ 72h	do 7 dana
HIV	serum	ELISA	Uzeti 3-5 ml krvi natašte u epruvetu bez antikoagulansa	+4°C/ 72h	do 7 dana
Toxoplasma gondii IgM/IgG	serum	ELISA	Uzeti 3-5 ml krvi natašte u epruvetu bez antikoagulansa	+4°C/ 72h	do 7 dana
Rubella virus IgM/IgG	serum	ELISA	Uzeti 3-5 ml krvi natašte u epruvetu bez antikoagulansa	+4°C/ 72h	do 7 dana
CMV IgM/IgG	serum	ELISA	Uzeti 3-5 ml krvi natašte u epruvetu bez antikoagulansa	+4°C/ 72h	do 7 dana
HSV-1 IgM/IgG	serum	ELISA	Uzeti 3-5 ml krvi natašte u epruvetu bez antikoagulansa	+4°C/ 72h	do 7 dana
HSV-2 IgM/IgG	serum	ELISA	Uzeti 3-5 ml krvi natašte u epruvetu bez antikoagulansa	+4°C/ 72h	do 7 dana
EBV VCA IgM/IgG	serum	ELISA	Uzeti 3-5 ml krvi natašte u epruvetu bez antikoagulansa	+4°C/ 72h	do 7 dana
Helicobacter pylori IgA/IgG	serum	ELISA	Uzeti 3-5 ml krvi natašte u epruvetu bez antikoagulansa	+4°C/ 72h	do 14 dana

Ukoliko se zahteva duži period čuvanja uzorke je moguće zamrznuti i testirati kasnije.

Uzorak krvi za serološke analize neće se obraditi ako je lipemičan ili hemoliziran.

## KRITERIJUMI ZA NEPRIHVATANJE UZORAKA U MIKROBIOLOŠKOJ LABORATORIJI

- Uz uzorak nije dostavljen pravilno popunjeno uput ( Uput za mikrobiološko ispitivanje, obrazac 1 )
  - Uzorak nije pravilno obeležen
  - Uzorak u neadekvatnoj, nesterilnoj ili kontaminiranoj posudi
  - Uzorak je dostavljen u posudi koja nije dobro zatvorena i uzorak curi izvan posude
  - Uzorak za izolaciju anaerobnih bakterija bez transportnog medijuma
  - Uzorak nije dostavljen u laboratoriju u predviđenom vremenu ili nije čuvan na odgovarajući način opisan u „Uputstvu za uzimanje, čuvanje i transport bolesničkih uzoraka za mikrobiološku analizu“
  - Količina uzorka nije dovoljna za izvođenje analize koja se traži
  - Uzorak za serološke analize ne uzima se pacijentima koji nisu natašte
  - Uzorak za serološke analize neće se obraditi ako je lipemičan ili hemoliziran
  - Uzorke ne treba odbaciti pre nego što kontaktiramo osobu koja je poslala uzorak
  - U slučaju da se radi o kritičnom i nezamenjivo uzorku koji je potrebno hitno obraditi uzorak se uzima u obradu uz obavezno informisanje o nedostacima koji su uočeni

Kontakt osobe dr Gordana Jovanović 063 461177  
dr Janko Marković 064 1859042  
Ninoslava Jovanović, glavni laborant 064 2068573