

IZVOD IZ UPUTSTVA ZA UZORKOVANJE

UZORKOVANJE - je postupak odabira određenog uzorka iz određenog dela tela koji će biti uzet za analizu.

POSTUPAK

OPŠTE ODREDNICE

1. Uzorkovati pre antibiotske terapije kad god je moguće, ako to nije moguće, potrebno je navesti primenjenu terapiju.
2. Uzorkovati materijal sa mesta gde će se suspektni organizam najverovatnije naći.
3. Izbegavati kontaminaciju uzoraka fiziološkom florom.
4. Upražnjavati asepsu kod uzorkovanja svih uzoraka.
5. Pacijentu dati jasne instrukcije.
6. Koristiti adekvatne posude i/ili transportne podloge.
7. Uzorci se uzimaju prema ovom uputstvu i to: u prijemnoj ambulanti Odeljenja za kliničku mikrobiologiju, na terenu (uzorkovanje obavlja laboratorijski tehničar) ili u drugoj medicinskoj ustanovi. Uzorci se dostavljaju što je pre moguće (po pravilu u roku od 2-3 sata nakon uzimanja). U suprotnom, obezbediti transport na temperaturi od +4 °C (+/-2) , najduže 24 sata.

UPUTNICA treba da sadrži sledeće informacije:

1. Ime pacijenta.
2. Godište i pol pacijenta.
3. Broj zdravstvene knjižice i JMBG.
4. Ime lekara koji upućuje pacijenta.
5. Datum i sat uzimanja uzorka.
6. Posebne procedure uzorkovanja ukoliko su korišćene.
7. Analizu koja se traži.
8. Dijagnozu, laboratorijske i epidemiološke podatke.
9. Ime osobe koja je uzorkovala materijal.

OZNAČAVANJE

Svaki uzorak se obeležava oznakom (nalepnica) dobro pričvršćenom za posudu u kojoj se nalazi uzorak. Oznaka sadrži identifikacioni broj identičan onom na propratnom listu.

ODBIJANJE UZORAKA

6.5.1. Kriterijumi za odbijanje uzoraka:

1. Neoznačen ili netačno označen uzorak.
2. Prolongiran transport i nedekvatni uslovi sredine tokom transporta.
3. Neodgovarajuća ili oštećena posuda.
4. Očigledna kontaminacija stranim materijalima.
5. Duplirani uzorci (dve stolice, dva sputuma) unutar perioda od 24-sata (izuzetak – multipli sputumi po bronhoskopiji).
6. Neadekvatan uzorak za zahtevanu kulturu; kao što su, rutinski vaginalni bris na anaerobe ili vršak Foleyevog katetera.

6.5.2. Postupak kod odbijenih uzoraka:

1. Obavestiti lekara i/ili vodećeg medicinskog tehničara o diskrepanci.
2. Zahtevati ponovljen uzorak.
3. Objasniti pacijentu razlog odbijanja i dati smernice za pravilno uzorkovanje (ako je potrebno dati "Vodič za korisnike mikrobioloških usluga).
4. Zavešti u svesku protokola vrstu i razlog odbijanja uzorka.
5. Kod primljenih neadekvatnih uzoraka (flakon, urin)..., uz izveštaj o ispitivanju izvestiti u pismenoj formi razlog za ponavljane uzorka. Zavešti u svesku protokola vrstu i razlog odbijanja uzorka.

UZORKOVANJE KLINIČKIH UZORAKA

6.6.1. Pre početka uzorkovanja dezinfikovati radne površine.

Uzorak	Oprema	Oprema za transport uzorka	Instrukcije (komentari)
Krv	Igla i brizgalica Vacutainer sistem	Transportovati u epruveti u kojoj je uzorkovana	Uzimanje krvi venepunkcijom. Pre venepunkcije kožu dezinfikovati 70%-tnim alkoholom, nakon čega ne palpirati to mesto. Uzeti 3-5ml krvi bez antikoagulansa. Centrifugirati 10 minuta na 3000 obr/min.
Bris konjunktive	Bris u sterilnom zaštitnom poklopcu Kornealni scraping (uzorkuje lekar)	Transportuje se uvučen nazad u zaštitni poklopac brisa. U slučaju dužeg transporta, uzorak staviti u Amies transportni medijum.	Odstraniti suvišan sekret sterilnom gazom. Preostali sekret pažljivo uzorkovati rotirajući bris. Ne dodirnuti kožu. Ako nema dovoljno eksudata (konjunktiva je suva), pre uzorkovanja bris umočiti u transportnu podlogu ili sterilan fiziološki rastvor. Dobro obrisati spojnicu donjeg kapka i forniksa od spoljašnjeg prema unutrašnjem uglu oka. Ako treba uzeti bris konjunktive oba oka, za svako oko koristiti poseban bris i dostaviti u laboratoriju odvojeno.
Bris iz ušnog kanala i sekreta iz srednjeg uha	Bris u sterilnom zaštitnom poklopcu	Transportuje se uvučen u zaštitni poklopac brisa. U slučaju dužeg transporta, uzorak staviti u Amies transportni medijum	Očistiti površinu spoljašnjeg uha fiziološkim rastvorom. Ušna školjka se povlači nagore i unazad kod odraslih, a kod dece dole i napred. Pažljivo uzorkovati reprezentativno područje rotirajući bris. Kod sumnje na otitis media, bris se uzima samo ako postoji supuracija, tj. perforacija bubne opne. U protivnom se uzima nazofaringealni bris. Za ispitivanje gljivične infekcije, preporučuje se skarifikat spoljašnjeg ušnog kanala, mada se koristi i bris.
Aspirat ili bris srednjeg uha	Sterilna posuda sa poklopcem ili Bris u sterilnom zaštitnom poklopcu	Transportuje se uvučen nazad u poklopac brisa ili u posudi u kojoj je uzorak uzet. Kod dužeg transporta, uzorak staviti u Amies tr.medijum	Uzorak uzeti samo ako uho curi ili je rađena timpanocenteza.
Feces	Sterilna posuda sa poklopcem Alkalna peptonska voda za <i>Vibrio cholerae</i>	Transportuje se u posudi u kojoj je uzorkovan.	Najbolji uzorak za bakteriološko ispitivanje je dijarealna stolica. Dovoljno je kašičicom čepa uzeti 1-2g dijarealne stolice ili grumen veličine lešnika u slučaju formirane stolice. Stolica se kod ležećih pacijenata za parazitološko ispitivanje (na crevne helminte i ciste crevnih protozoa) može sakupiti iz noćne posude i prebaciti u posudu sa navrtnjem (ne mora biti sterilna), a zatim poslati na parazitološko odeljenje (laboratoriju).

Uzorak	Oprema	Oprema za transport uzorka	Instrukcije (komentari)
			<p>Najmanja količina stolice za parazitološki pregled treba da odgovara veličini zrna lešnika. Stolica ne mora da bude sveža, ali ne sme biti starija od dva dana. Uzorak se ne sme inkubirati, već držati na hladnom.</p> <p>Za ispitivanje na crevne protozoe, uzorak stolice treba da je potpuno svež, tako da pacijent treba da defecira u toaletu laboratorije. Nakon prijema uzorka stolice, ona se odmah mikroskopira i zasejava na hranljivu podlogu (Loffler).</p> <p>Stolica na crevne protozoe sa provokacijom: U cilju dobijanja tečne stolice pacijentima se daje (izričito samo u slučaju ako lekar koji upućuje pacijenta to pismeno traži) gorka so (rastvor priprema Odeljenje za pripremu hranjivih podloga sa sterilizacijom). Nakon preuzimanja tečne stolice od pacijenta, feces se odmah mikroskopira i zasejava na hranljivu podlogu.</p> <p>Napomena: Deca ispod 12 godina uzrasta ne smeju se provocirati sa gorkom solju.</p> <p>7 dana pre uzimanja uzorka stolice, bolesnik ne sme biti pregledan radiološki sa kontrastnim sredstvom, jer ovo umanjuje mogućnost nalaza cista crevnih protozoa.</p>
Rektalni bris	Bris u sterilnom zaštitnom poklopcu	Transportuje se uvučen nazad u zaštitni poklopac brisa	<p>Samo u akutnim slučajevima. Razmaknuti gluteuse i vlažnim brisom obrisati predeo oko anusa. Ući brisom iza analnog sfinktera.</p> <p>Na brisu se mora pokazati feces.</p>
Perianalni otisak	Selotejp traka zalepljena na predmetno mikroskopsko staklo	Transportuje se na mikroskopskom staklu.	<p>Pacijent pre uzimanja perianalnog otiska ne sme prati perianalni predeo najmanje 12 časova. Perianalni otisak se uzima rano ujutru nakon ustajanja. Odlepiti selotejp sa predmetnog stakla, nalepiti selotejp na perianalnu regiju i pritisnuti nekoliko puta na perianalne nabore. Odlepiti i vratiti nazad na predmetno staklo. Preporučuje se da se otisak uzima 5-6 dana uzastopno.</p>
Bris uretre Ekspriat prostate Ejakulat	Bris u sterilnom zaštitnom poklopcu Sterilna posuda sa poklopcem za ejakulat	Transportuje se uvučen nazad u zaštitni poklopac brisa ili u čaši. Za <i>N.gonorrhoeae</i> koristiti ugljeni Amies transportni medijum.	<p>Očistiti spoljašnji otvor uretre pre uzorkovanja uretralnog sekreta. Brisom pažljivo ući u meatus uretre i rotirati ga. Treba izbeći kontaminaciju mikroorganizmima sa prepucijuma. Koristiti tanak uretralni bris. Pre toga, pacijent ne bi trebao da mokri 2 sata. Za muškarce, ako sekret nije vidljiv, potrebno je pokušati dobiti "mlečni" eksudat iz penisa.</p> <p>Inokulisati GC agar pri samom uzorkovanju. Pripremiti pločicu za mikroskopski preparat koristeći drugi bris.</p> <p>Ekspriat prostate se dobija masažom prostate kroz rektum. Ne preporučuje se u toku akutnog prostatitisa. Ukoliko se ispituje na prisustvo mikoplazmi i hlamidija, redosled je sledeći: 1. bris za kulturelno</p>

Uzorak	Oprema	Oprema za transport uzorka	Instrukcije (komentari)
			ispitivanje bakterija, 2. bris za kulturelno ispitivanje mikoplazmi i 3. bris za ispitivanje prisustva hlamidijalnih antigena.
Bris cerviksa, vagine	Bris ili intracervikalna četkica u sterilnom zaštitnom poklopcu	Transportuje se uvučen nazad u zaštitni poklopac brisa Za <i>N.gonorrhoe</i> koristiti ugljeni Amies transportni medijum.	Cervikalni i vaginalni brisevi se uzimaju pomoću spekuluma pri ginekološkom pregledu. Prvim brisom odstraniti sekret, a drugim uzeti uzorak iz endocervikalnog kanala ili vagine. Za <i>Trichomonas</i> , se uzima bris sa zadnjeg forniksa. U slučaju pelvične infekcije, uključujući sumnju na gonoreju, uzima se bris ostiuma cerviksa. Za specifičnu dijagnozu BV, posebno je uzeti posebno suvi bris vagine, a posebno sekret. Ukoliko se ispituje na prisustvo mikoplazmi i hlamidija, redosled je sledeći: 1. bris za kulturelno ispitivanje bakterija, 2. bris za kulturelno ispitivanje mikoplazmi i 3. bris za ispitivanje prisustva hlamidijalnih antigena. Tečnost i gnoj se uzimaju iz falopijevih tuba, tubo-ovarijalnih i Bartholin-ijevih apscesa i tokom hirurških intervencija - minimum 1ml. Uzimanje uzoraka cervikalnog brisa za PCR test na humani papiloma virus vrše isključivo lekari ginekolozi. Cervikalni bris se uzima posebnom četkicom za jednokratnu upotrebu. Središnjim delom četkice (vrhom) ući u cervikalni kanal toliko duboko da kratke resice koje se nalaze sa strane budu potpuno u kontaktu sa ektocerviksom. Pritisnuti nežno i okretati četkicu.
Bris usne duplje	Bris u sterilnom zaštitnom poklopcu	Transportuje se uvučen nazad u zaštitni poklopac U slučaju dužeg transporta, uzorak staviti u Amies transportni medijum	Uzorkovati gnoj ako je prisutan ili u drugom slučaju uzeti bris sa lezije ili zapaljenog područja. Kod dentalnog apscesa za ispitivanje se uzima gnoj.
Bris grla	Bris u sterilnom zaštitnom poklopcu Špatula za jezik	Transportuje se uvučen nazad u zaštitni poklopac U slučaju dužeg transporta, uzorak staviti u Amies transportni medijum, za <i>N.gonorrhoe</i> koristiti ugljeni Amies transportni medijum.	Koristiti špatulu. Pažljivo uzorkovati reprezentativno područje rotirajući bris. Uzorkovati samo sa zadnjeg zida ždrele, između i oko tonzila izbegavajući jezik i uvulu.
Bris nosa	Bris u sterilnom zaštitnom poklopcu	Transportuje se uvučen nazad u zaštitni poklopac U slučaju dužeg transporta, uzorak staviti u Amies transportni medijum	Bris navlažiti u fiziološkom rastvoru. Rotirati štapić brišući unutrašnji kožni nabor prvo jedne, a potom istim brisom i druge nozdre.
Bris nazofarinksa	Bris u sterilnom zaštitnom poklopcu	Transportuje se uvučen nazad u zaštitni poklopac U slučaju dužeg	Tankim sterilnim štapićem lagano ući u nazofarinks prateći smer nosnog hodnika, lagano rotirajući štapić.

Uzorak	Oprema	Oprema za transport uzorka	Instrukcije (komentari)
		transporta, uzorak staviti u Amies transportni medijum	
Sputum	Sterilna posuda sa poklopcem	Transportovati u posudi u kojoj je uzorkovan unutar. U slučaju dužeg transporta, uzorak staviti u Amies transportni medijum	Pre davanja sputuma, pacijent treba da ispere usta vodom. Prvi jutranju uzorak je najbolji. Uzorci sputuma se dobijaju iz donjih delova respiratornog trakta dubokim iskašljavanjem. Minimalan volumen uzorka je 1 ml. Ukoliko je kašalj suv, može pomoći inhalacija aerosola. Indukovani sputum- iskašljavanje se indukuje inhalacijom 25 ml 3-10%-tnog sterilnog NaCl uz pomoć ultrazvučnog inhalatora u trajanju oko 20 minuta. Tokom inhaliranja na svakih 5 minuta, bolesnik iskašlje u sterilnu posudu. Pljuvačka i nazalni sekret nisu adekvatni uzorci.
Koža i nokti: Skarifikacija na dermatofite	Skalpel Sterilna Petri šolja.	Transportovati u posudi u koju je uzet.	Koža: Očistite sa 70% alkoholom i uzmite uzorak sa granice aktivnog kožnog procesa. Lezije sastrugati tupom stranom skalpela. Nokti: Aficirani nokat treba odseći što je više moguće. Odsečeni deo treba da obuhvati celu debljinu nokta, a uz to uzorkovati i mrvljive delove nokta. Ukoliko su zahvaćeni samo površinski delovi nokta, uzima se skarifikat kiretom.
Dlaka	Laboratorijske makazice Sterilna Petri šolja.	Transportovati u posudi u koju je uzeta.	Uzimanje dlake za pregled čupanjem iz korena.
Urin Srednji mlaz	Sterilna posuda sa poklopcem	Transportuje se u posudi u kojoj je uzorkovan.	Dati pacijentu jasne instrukcije. Oprati se sapunom, ne dezinficijensom. Urin srednjeg mlaza – preporučuje se za rutinsku upotrebu. Prvi mlaz urina odbaciti i bez prekidanja pustiti oko 10 mL urina u sterilan kontejner. Ukoliko se koristi borna kiselina, pustiti urin do oznake i sadržaj izmešati. Ako se traži pregled urina na <i>Trichomonas vaginalis</i> , uzima se prvi mlaz jutarnje mokraće i uzorak u laboratoriju dostaviti odmah (najduže u roku od 2 sata na temperaturi tela). Urin iz kesice - koristi se kod male dece. Sterilna kesica se plasira na očišćenu površinu genitalija, a sakupljeni urin prebaci u sterilan kontejner. Urin iz uretera – parni uzorci urina dobijeni iz svakog uretera endoskopski. Urin za dijagnozu prostatitisa – Inicijalno se uzima urin iz uretre (5-8mL), urin iz mokraćne bešike, ekstrimat prostate i 2-3mL urina dobijenog nakon masaže prostate.
Urin kateterizovani pacijenti	Sterilna posuda sa poklopcem	Transportuje se u posudi u kojoj je uzorkovan.	Jedna uretralna kateterizacija: Ne preporučuje se za rutinsko uzimanje uzoraka. Trajni uretralni kateter: uzorak se sakuplja kroz zid katetera direktnom aspiracijom pomoću igle i šprica. Ne kultivisati vrh Foleyeovog katetera. Dekontaminirati kateter kao kod venepunkcije.
Kožne promene, površinske rane	Bris u sterilnom zaštitnom poklopcu	Transportovati u sterilnoj epruveti U slučaju dužeg	Uzorkovati reprezentativni deo lezije. Bris suve lezije nije adekvatan. Ukoliko se uzorci uzimaju sa ulkusa, treba prvo ukloniti debris, ulkus treba očistiti sterilnim

Uzorak	Oprema	Oprema za transport uzorka	Instrukcije (komentari)
		transporta, uzorak staviti u Amies transportni medijum	fiziološkim rastvorom. Bioplat ili, što se više preporučuje, aspiracija iglom i špricom, treba da se uzme sa ivice rane. Staviti vrh male igle ispod ivice margine i ubrizgati pažljivo najmanje 1mL sterilnog rastvora 0.85% NaCl bez konzervansa. Nakon masaže ivice ulkusa, ponoviti ubrizgavanje dodatnih 1mL sterilnog rastvora. Ponovo masirati ivicu ulkusa, aspirirati približno 0.25 mL tečnosti i staviti u sterilanu nepropusnu posudu.
Rane (duboke)	Bris u sterilnom zaštitnom poklopcu Igla i brizgalica	Za briseve koristiti transportnu podlogu Gnoj-anaerobni transport u špricu kojim je uzet.	Uzorak gnoja se preferira u odnosu na bris. Sakupite sa sterilnom iglom i špricom iz koje su ranije izbačeni svi mehurići vazduha. Održati anaerobne uslove. Minimalna zapremina je 1mL gnoja. Međutim, češće se dobija bris. U tom slučaju, uzeti bris iz što dubljih delova rane da bi se izbegla superficijalna mikroflora.

I. NAPOMENA: Uzorci koji su uzorkovani u ambulantom Domova zdravlja i domu pacijenta, do laboratorije se transportuju u frižider torbama u kontrolisanim uslovima:

-temperatura od +4 °C (+/-2) , najduže 24 sata

-temperaturu transporta meriti i evidentirati na obrascu ZU08-O/4.

-dezinfekcija torbi pre i nakon transporta i evidencija u obrazac: Evidencija preventivnog održavanja aparata i uređaja C05.2 – U01-O/7.

6.7 ČUVANJE KLINIČKIH UZORAKA U LABORATORIJI

Vrsta uzorka	Način čuvanja	Temperatura čuvanja	Rok čuvanja
serum	epruveta	na -18 do -20°C	jedna godina
urin	sterilna posuda sa poklopcem	na 4 do 8 °C	24 sata
brisevi	bris	/	do završetka primarne obrade
intracervikalne četkice	intracervikalne četkice	na 18 do 25 °C do 2 dana na 2 do 8 °C do 2 nedelje na -18 do -60 °C do 2 meseca.	do izdavanja rezultata
perianalni otisak	otisak	/	do izdavanja rezultata
feces	sterilna posuda sa poklopcem	na 4 do 8 °C	24 sata
ejakulat	sterilna posuda sa poklopcem	/	do završetka primarne obrade
sputum	sterilna posuda sa poklopcem	na 4 do 8 °C	24 sata
skarifikat, dlaka, nokat	Petri ploča	/	do izdavanja nalaza nativnog preparata
eksprimat prostate	bris	/	do završetka primarne obrade