

Zavod za kliničku mikrobiologiju - Odjel za bakteriologiju i bolničke infekcije

Uzimanje uzoraka

Uzorci iz primarno sterilnih materijala

Na uputnici obavezno navesti sljedeće:

- podatci o pacijentu (ime i prezime, godina rođenja, odjel)
- dijagnoza
- da li pacijent uzima antimikrobnu terapiju, ako da koju
- vrsta uzorka (kod hemokultura označiti broj seta)
- vrsta pretrage
- datum i vrijeme uzimanja uzorka
- ime nadležnog liječnika

UZORAK	Posuda	Uzimanje materijala	Transport (odmah po uzimanju)	Pohranjivanje (samo ako transport nije moguć odmah)	Očekivani patogeni (kultivacija ne uključuje <i>M. tuberculosis</i>)
Krv- 2-3 seta u 24 sata	Bujoni za hemokulture (istovremeno uzeti set - bočica za AE i AN uzgoj smatraju se jednim uzorkom) odrasli – 10 ml po bočici djeca- 1-5 ml po bočici Kod sumnje na intracelularne patogene (bartonela) od laboratorija zatražiti Isolator bočice i u njima dostaviti krv	Prije venepunkcije kožu dezinficirati 70% alkoholom i poslije to mjesto više ne palpirati Uzeti 2 do 3 uzorka u razmacima od 1/2h s različitih mjesta, prije očekivanog maksimuma temperature U akutnoj sepsi uzeti 2 seta s različitih mjesta unutar 10 min (prije početka antimikrobne terapije) Kod sumnje na kateter sepsu uzeti uzorak krvi iz periferije i cvk – svakako naznačiti vrijeme uzimanja uzorka	ST	+ 37 C	Bilo koja vrsta bakterija i gljiva Pozitivni rezultati se javljaju telefonom (preliminarni i definitivni) Nalaz se izdaje za 5 dana ukoliko prije nije bio pozitivan Telefonski dogovoriti dulju inkubaciju kod sumnje na brucelozu, tularemiju i gljivičnu infekciju (i naznačiti na uputnici)
Kateteri (NE urinarni)	Sterilna posuda s navojem	Dezinficirati kožu prije vađenja (70% alkohol) vrh urinarnog katetera ne slati na	ST	+4 C (po mogućnosti)	Bilo koja vrsta bakterija i gljiva Pozitivni rezultati se javljaju telefonom

2.2.2023.

kateter)		analizu vrh i.v. katetera ne slati u bujonu!		ne dulje od 2 sata)	(preliminarni i definitivni) Mali broj bakterija u kvantitativnom i semikvantitativnom uzgoju ukazuje na vjerojatnu kontaminaciju, ali ne isključuje patogenu ulogu u slučaju kliničkih znakova kateter sepse
Tjelesne tekućine (zglobna, pleuralna, amnionska, ascites, žuč, itd)	Sterilna epruveta s navojem Iznimno, ako uzorka ima malo, može se nasaditi u bočicu za hemokulturu*	Dezinficirati kožu prije aspiriranja (70% alkohol) BRIS nije adekvatan uzorak, već SAMO aspirat Poslati što je moguće više materijala	ST	ST / 24 sata * nasadena bočica za hemokulturu na + 37 C	Bilo koja vrsta bakterija i gljiva Amnionska tekućina i tekućina dobivena kuldocentezom trebaju se slati u anaerobnom transportnom mediju Pozitivni rezultati se javljaju telefonom (preliminarni i definitivni) Telefonski dogovoriti dulju inkubaciju kod sumnje na gljive (i naznačiti na uputnici)
Likvor	Sterilna epruveta s navojem (min.1 ml, za acidorezistentne uzročnike 5 ml)	Dezinficirati kožu prije aspiriranja (70% alkohol). Uzeti po 1-2 ml u tri epruvete (za mikrobiologiju, citologiju i biokemiju – epruvetu za mikrobiologiju nikad ne puniti prvu, ako samo 1 epruveta prvo ju odneti na mikrobiologiju) Ako je moguće odmah pri uzimanju nekoliko kapi likvora direktno nasaditi i u epruvetu s kosim agarom te epruvetu s hranjivim bujonom koji se dobiju u laboratoriju*	ST Zbog hitnosti pretrage likvor se predaje iz ruke u ruku!	ST *Nasadene hranjive podloge na +37 C Za bakteriologiju ne stavljati u hladnjak !	Bilo koja vrsta bakterija i gljiva Pozitivni rezultati se javljaju telefonom (preliminarni i definitivni) Nalaz se izdaje za 5 dana ukoliko prije nije bio pozitivan Telefonski dogovoriti dulju inkubaciju kod sumnje na gljive (i naznačiti na uputnici) Rutinska obrada ne uključuje tuš preparat i preparat po Ziehl-Neelsenu (po potrebi naznačiti na uputnici)
Bioptati	Sterilna posuda s navojem (dodati par kapi sterilne fiziološke otopine da tkivo bude	Dezinficirati kožu prije biopsije (70% alkohol)	ST	ST / 24 sata dodatni materijal za moguće buduće	Bilo koja vrsta bakterija i gljiva Pozitivni rezultati se javljaju telefonom (preliminarni i definitivni)

2.2.2023.

	vlažno)			analize sačuvati na -70 C	Telefonski dogovoriti dulju inkubaciju kod sumnje na gljive (i naznačiti na uputnici)
Aspirat (bris) duboke rane, apscesa	a) Aspirat poslati u sterilnoj epruveti. Ako je uzorka malo ili se ne može odmah otpremiti u laboratorij nasaditi u bočicu za anaerobnu hemokulturu b) Bris je loš uzorak, ali ako se uzima pohraniti ga u anaerobni transportni medij	Dezinficirati kožu prije aspiriranja (70% alkohol). Aspirirati duboko u otvorenu ranu, najbolje s dna ili stijenke apscesa ili incidirati komad tkiva Tkivo ili tekućina bolji su uzorak od brisa U slučaju male količine aspiriranog materijala navući u špricu malu količinu sterilne fiziološke otopine i proštrcati u sterilnu epruvetu ili bočicu za hemokulturu*	ST	ST / 24 *aspirat u bočici za hemokulturu na +37 C	Bilo koja vrsta bakterija i gljiva Pozitivni rezultati se javljaju telefonom (preliminarni i definitivni) Telefonski dogovoriti dulju inkubaciju kod sumnje na gljive (i naznačiti na uputnici)
Kožne promjene, površinske rane (celulitis, opekline)	Bris u sterilnoj epruveti U slučaju duljeg transporta pohraniti u Amies transportni medij	Prije uzimanja brisa područje izoprati sterilnom fiziološkom otopinom Obrisati rub prema zdravom tkivu, odstraniti kruste	ST	ST / 24 sata	<i>S.aureus</i> , BHS-A i gljive se izdaju ako su prisutni u bilo kojoj količini (u tom slučaju preliminarni i definitivni nalaz se javljaju telefonom) Ostale bakterije se izdaju samo ako predstavljaju dominantnu floru ili zbog rezistencije zahtjevaju kontaknu izolaciju pacijenta Saprofitne bakterije kože se ne izdaju
Krv na <i>Aspergillus</i> antigen (galaktoman)	Krv u epruveti bez antikoagulansa	Prije venepunkcije kožu dezinficirati 70% alkoholom i poslije to mjesto više ne palpirati	ST	Test se radi iz svježe krvi – ukoliko uzorak nije moguće poslati odmah odvojiti serum i pohraniti na -20°C	<i>Aspergillus</i> antigen (galaktoman)

ST = sobna temperatura

2.2.2023.

Uzorci iz dišnog sustava

Na uputnici obavezno navesti sljedeće:

- podatci o pacijentu (ime i prezime, godina rođenja, odjel)
- dijagnoza
- da li pacijent uzima antimikrobnu terapiju, ako da koju
- vrsta uzorka
- vrsta pretrage
- datum i vrijeme uzimanja uzorka
- ime nadležnog liječnika

UZORAK	Posuda	Uzimanje materijala	Transport (odmah po uzimanju)	Pohranjivanje (samo ako transport nije moguć odmah)	Očekivani patogeni (kultivacija ne uključuje <i>M. tuberculosis</i>)
Aspirat ili bris srednjeg uha	Sterilna posuda s navojem ili bris u sterilnoj epruveti	Uzorak uzeti samo ako uho curi ili je učinjena timpanocenteza	ST	ST / 24 sata Ako uzorak nije moguće poslati odmah treba ga slati u Amies transportnom mediju	Bilo koja vrsta bakterija i gljiva Telefonski dogovoriti dulju inkubaciju kod sumnje na gljive (naznačiti na uputnici)
Bris vanjskog uha	Bris u sterilnoj epruveti	Prije uzimanja brisa odstraniti kruste fiziološkom otopinom; bris rotirati u vanjskom kanalu	ST	24 sata na +4 C	Bilo koja vrsta bakterija i gljiva OSIM: Saprofitne bakterije kože se ne izdaju
Bris spojnice oka	Bris u sterilnoj epruveti	Prvim sterilnim štapićem odstraniti sluz, a drugim uzeti obrisak pazeći da se ne dotakne kožni dio vjeđe	ST	ST / 24 sata Ako uzorak nije moguće poslati odmah treba ga slati u Amies transportnom mediju	Bilo koja vrsta bakterija i gljiva OSIM: Saprofitne bakterije kože se ne izdaju Pretraga ne uključuje <i>Ch. trachomatis</i> (vidi: Laboratorij za molekularnu i citološku dijagnostiku)
Bris ždrijela	Bris u sterilnoj epruveti	Sterilnim štapićem treba obrisati tonzile (lukove ždrijela) te stražnju stijenku	ST	ST / 24 sata za <i>N.gonorhoeae</i> unutar	BHS-A Ako se traži neki drugi uzročnik treba

	za <i>N.gonorrhoeae</i> u Amies ugljeni transportni medij*	farinksa, pazeći pritom da se ne dotakne jezik ili bukalna sluznica		12 sati Ako uzorak nije moguće poslati odmah treba ga slati u Amies transportnom mediju	naznačiti na uputnici
Bris / aspirat nazofarinksa	Bris u sterilnoj epruveti	Tankim sterilnim štapićem lagano ući u nazofarinks prateći smjer nosnog hodnika, lagano rotirati štapić	ST	ST / 24 sata Ako uzorak nije moguće poslati odmah treba ga slati u Amies transportnom mediju	<i>S.pneumoniae</i> , <i>H.influenzae</i> , <i>M.catarrhalis</i> , BHS-A Ako se traže neki drugi uzročnici (<i>N.meningitidis</i>) treba naznačiti na uputnici Bris nazofarinksa nije kvalitetan uzorak (nedovoljno specifičan i nedovoljno osjetljiv) za otkrivanje uzročnika upale srednjeg uha ili sinusa
Bris / aspirat nazofarinksa na <i>Bordetella pertusis</i>	Bris u sterilnoj epruveti	Tankim sterilnim štapićem lagano ući u nazofarinks prateći smjer nosnog hodnika, lagano rotirati štapić	ST Što hitnije dostaviti u laboratorij	ST / 24 sata Ako uzorak nije moguće poslati odmah treba ga slati u transportnom mediju	<i>Bordetella pertusis</i> Pozitivni rezultati se javljaju telefonom Nalaz se izdaje za 7 dana ukoliko prije nije bio pozitivan
Bris nosa na <i>Staphylococcus aureus</i> ili MRSA	Bris u sterilnoj epruveti	Sterilni štapić navlažiti u sterilnoj fiziološkoj otopini, 5 puta čvrsto rotirati štapić brišući unutarnji kožni nabor prvo jedne, a potom istim štapićem i druge nosnice (do 1-2 cm dubine)	ST	ST / 24 sata	<i>Staphylococcus aureus</i> MRSA Na uputnici naznačiti da li se traži detekcija stafilokoknog kliconoštva ili se radi o rani unutar nosnog hodnika
Sputum: a)ekspektorirani b)inducirani	Sterilna posuda s navojem	a) Prije davanja sputuma pacijent treba izapirati (grgljati) usta vodom te pokušati proizvesti „duboki“ iskašljaj	ST	a) +4 ⁰ C / 24 sata ekspektorirani b) ST / 24 sata inducirani	<i>S.pneumoniae</i> , <i>H.influenzae</i> , <i>M.catarrhalis</i> , BHS-A, <i>S.aureus</i> Telefonski dogovoriti dulju inkubaciju kod sumnje na gljive osim <i>Candida</i> spp. (naznačiti na uputnici)

		b) iskašljavanje se inducira inhalacijom 3-10% sterilne fiziološke otopine			<p>Ako se traže neki drugi uzročnici (<i>P.aeruginosa</i> kod cistične fibroze) treba naznačiti na uputnici</p> <p>Rutinska obrada ne uključuje tuš preparat i preparat po Ziehl-Neelsenu (po potrebi naznačiti na uputnici)</p> <p>Kvalitetnim uzorkom se smatra onaj iskašljaj u kojem ima puno (>25 u vidnom polju) polimorfonukleara i malo (<10 u vidnom polju) epitelnih stanica. Velik broj epitelnih stanica ukazuje da se radi o ispljuvku, a ne iskašljaju</p>
Bronhoalveolarna lavaža (BAL) Endotrahealni aspirat	Sterilna posuda s navojem od 15 ml	BAL se uzima tijekom bronhoskopije Endotrahealni aspirat se uzima preko sterilnog katetera	ST	+4 ⁰ C / 24 sata	<p>Bilo koja vrsta bakterija i gljiva</p> <p>Fiziološka flora gornjeg dišnog sustava se ne izdaje</p> <p>Mali broj bakterija u kvantitativnom uzgoju ukazuje na vjerojatnu kontaminaciju – interpretacija ovisi i o vrsti nađene bakterije</p> <p>Telefonski dogovoriti dulju inkubaciju kod sumnje na gljive osim <i>Candida</i> spp. (naznačiti na uputnici)</p> <p>Rutinska obrada ne uključuje tuš preparat i preparat po Ziehl-Neelsenu (po potrebi naznačiti na uputnici)</p>

ST = sobna temperatura

Uzorci iz probavnog sustava

Na uputnici obavezno navesti sljedeće:

- podatci o pacijentu (ime i prezime, godina rođenja, odjel)
- dijagnoza
- da li pacijent uzima antimikrobnu terapiju, ako da koju
- vrsta uzorka
- vrsta pretrage
- datum i vrijeme uzimanja uzorka
- ime nadležnog liječnika

UZORAK	Posuda	Uzimanje materijala	Transport (odmah po uzimanju)	Pohranjivanje (samo ako transport nije moguć odmah)	Očekivani patogeni
Stolica	Čista, nepropusna posuda	Dovoljno je žličicom čepa zagrabit i oko 1-2 g proljevaste stolice ili grumen veličine lješnjaka u slučaju formirane stolice	ST	+4 ⁰ C / 24 sata U transportnom mediju +4C / 48h	Rutinska obrada uključuje salmonele, šigele, jersiniju i kampilobakter, <i>E.coli</i> O157,O124 ako se traže drugi uzročnici naznačiti na uputnici
Bris rektuma (Bris ili uzorak iz pelene manje osjetljivi od stolice)	Bris u sterilnoj epruveti	Uzeti bris do dubine od 2,5cm od analnog sfinktera (feces mora biti vidljiv na brisu zbog detekcije dijarealnih patogena)	ST	ST / 24h	<i>Shigella</i> spp, <i>Salmonella</i> spp.
Stolica na <i>Vibrio cholerae</i>	Alkalna peptonska voda za <i>Vibrio cholerae</i> Podlogu zatražiti u	Dovoljno je žličicom čepa zagrabit i oko 1-2 g proljevaste stolice ili grumen veličine	+4 ⁰ C	U alkalnoj peptonskoj vodi do 6 h	<i>Vibrio cholerae</i>

2.2.2023.

	mikrobiološkom laboratoriju	lješnjaka u slučaju formirane stolice. Uzorak uzeti u ranoj fazi bolesti.		(prethodno ohladiti medij 1-2 h)	
Stolica na rotavirus i adenoviruse	Čista, nepropusna posuda	Dovoljno je žličicom čepa zagrabit oko 1-2 g proljevaste stolice ili grumen veličine lješnjaka u slučaju formirane stolice.	ST	+4 C / ≤24 sata ≥24h -20°C	Rotavirus Adenovirusi
Bioptat želuca na <i>H. pylori</i>	Sterilna posuda s navojem + transportni medij (brucela bujon s 20% glicerola, Stuart transportni medij ili Portagerm pylori)	Uzorak se uzima tijekom gastroskopije . Preporuča se uzorak uzeti s više mjesta kako bi vjerojatnost izolacija bila što veća	≤1h ST	+4 C / ≤24 sata u transportnom mediju	<i>H. pylori</i>
<i>C. difficile</i> dokaz toksina A i B	Čista, nepropusna suha posuda >5 ml	Dovoljno je žličicom čepa zagrabit oko 1-2 g proljevaste stolice ili grumen veličine lješnjaka u slučaju formirane stolice. Testiranje formirane ili tvrde stolice nije preporučljivo (pacijent bi trebao imati ≥5 tekućih ili mekih stolica na dan). 1-2 uzorka mogu biti potreba za detekciju niskih razina toksina	≤1h ST	1-24 +4°C >24 -20°C (oprez- brz gubitak aktivnosti citotoksina)	Toksikogeni soj <i>C. difficile</i> U dječjoj dobi česta je kolonizacija toksikogenim sojevima

ST = sobna temperatura

Uzorci iz urogenitalnog sustava

Na uputnici obavezno navesti sljedeće:

- podatci o pacijentu (ime i prezime, godina rođenja, odjel)
- dijagnoza
- da li pacijent uzima antimikrobnu terapiju, ako da koju
- vrsta uzorka
- vrsta pretrage
- datum i vrijeme uzimanja uzorka
- ime nadležnog liječnika

UZORAK	Posuda	Uzimanje materijala	Transport (odmah po uzimanju)	Pohranjivanje (samo ako transport nije moguć odmah)	Očekivani patogeni (kultivacija ne uključuje <i>M. tuberculosis</i>)
Urin	Sterilna posuda s navojem	Spolovilo oprati sapunom i vodom ili u ambulantnim uvjetima sterilnom fiziološkom otopinom (jednim potezom tupfera u smjeru od naprijed prema otraga). Prvi mlaz ispustiti, a srednji uhvatiti u sterilnu posudu.	ST +4 C ako se očekuje da će od uzimanja do nasađivanja uzorka proći > 2h	+4 ⁰ C / 24 sata	<i>E.coli</i> i <i>S.saprophyticus</i> (u mladih žena) izdaju se ako su prisutni u čistoj kulturi u količini $\geq 10^3$ cfu/ml. Ostale bakterije se izdaju ako su prisutne u čistoj kulturi u količini $\geq 10^4$ cfu/ml U interpretaciji nalaza potrebno je uzeti u obzir biokemijski nalaz urina i kliničku sliku. Kod trajnog urinarnog katetera uzorak ne uzimati bez kliničkih simptoma upale - na uputnici naznačiti da se radi o kateter

					urinu
Bris cerviksa, vagine	Bris u sterilnoj epruveti	Bris cerviksa se uzima pri ginekološkom pregledu spekulima – prvim brisom odstraniti sekret te drugim brisom uzeti uzorak iz endocervikalnog kanala	ST	ST / 24 sata	<p><i>Staphylococcus aureus</i>, BHS-A, BHS-B, <i>Candida albicans</i></p> <p>Detekcija <i>Gardnerella vaginalis</i> se zasniva na preparatu po Gramu</p> <p>Navedene bakterije se u genitalnom traktu nalaze i normalno kao dio fiziološke ili kolonizirajuće flore, ali kad se nađu kao dominantan izolat mogu biti povezani s određenim kliničkim simptomima</p> <p>Kod djece su u brisu vagine / vulve mogući i respiratorni patogeni</p> <p>Detekciju <i>Neisseria gonorrhoeae</i>, <i>Listeria monocytogenes</i>, <i>Actinomyces</i> spp. (anaerobi) treba posebno naznačiti na uputnici</p>
Bris cerviksa, vagine na BHS/B	Bris u sterilnoj epruveti		ST	ST / 24 sata	Ciljana pretraga na BHS/B je indicirana u trudnica pred porod (35.tj. trudnoće)
Bris cerviksa, vagine, uretre na <i>N.gonorrhoeae</i>	Amies ugljeni transportni medij		ST	ST / 24h	<p><i>N.gonorrhoeae</i></p> <p>Za PCR dijagnostiku vidi: Laboratorij za molekularnu i citološku dijagnostiku</p>

Eksprimat prostate, ejakulat	Sterilna posuda s navojem	Eksprimat prostate se dobiva masažom prostate kroz rektum. Ne preporuča se u tijeku akutnog prostatitisa.	ST	ST / 24 h	Bilo koja vrsta bakterija i gljiva Eksprimat prostate se izdaje kvantitativno. Za interpretaciju nalaza je uputno uspoediti porast bakterija iz eksprimata s porastom bakterija iz prvog, drugog i trećeg (nakon eksprimata) mlaza urina – 10x veći broj bakterija u 1. i 2. mlazu urina negoli u eksprimatu prostate i 3. mlazu ukazuje da bakterije potječu iz mjehura ili uretre, a ne prostate
Bris cerviksa, uretre, ejakulat, eksprimat prostate, urin na <i>Mycoplasma hominis</i> i <i>Ureaplasma urealyticum</i>	Specijalne transportne podloge koje se dobiju u laboratoriju	Bris uretre (tanki sterilni bris staviti 2-4 cm u lumen uretre, rotirati ga) ili bris cerviksa uroniti u transportnu podlogu i dobro protresti te potom bris odbaciti a podlogu dostaviti u laboratorij	ST	ST / 24 h	<i>Mycoplasma hominis</i> i <i>Ureaplasma urealyticum</i> mogu predstavljati saprofitnu floru. Nalaz ovih bakterija u kolicini $\geq 10^4$ cfu/ml govori u prilog infekciji te se izdaje s antibiogramom

ST = na sobnoj temperaturi

Uzorci za molekularnu dijagnostiku

Na uputnici obavezno navesti sljedeće:

- podatci o pacijentu (ime i prezime, godina rođenja, odjel)
- dijagnoza
- da li pacijent uzima antimikrobnu terapiju, ako da koju
- vrsta uzorka
- vrsta pretrage
- datum i vrijeme uzimanja uzorka
- ime nadležnog liječnika

Uzorke što prije dopremiti u laboratorij (moguće čuvanje na 2-8°C do 6 sati), **za pohranu smrznuti na -20°C (iz drugih ustanova poslati na ledu)**

Pretraga	Uzorak	Metoda	Napomena
Detekcija <i>Neisseria meningitidis</i>	Puna krv (epruveta ljubičasti čep-EDTA), likvor	Real time PCR	LightCycler 2.0 (Roche)
Detekcija <i>Streptococcus pneumoniae</i>	Puna krv (epruveta ljubičasti čep-EDTA), likvor, ostali uzorci po potrebi	Real time PCR	LightCycler 2.0 (Roche)
Detekcija <i>Listeria monocytogenes</i>	Puna krv (epruveta ljubičasti čep-EDTA), likvor, ostali uzorci po potrebi	Real time PCR	LightCycler 2.0 (Roche)
Detekcija <i>Haemophilus influenzae</i>	Puna krv (epruveta ljubičasti čep-EDTA), likvor, ostali uzorci po potrebi	Real time PCR	LightCycler 2.0 (Roche)
Detekcija <i>Staphylococcus spp.</i> / <i>S. aureus</i> / MRSA	Likvor, ostali uzorci po potrebi (osim krvi)	Real time PCR	LightCycler 2.0 (Roche)
Detekcija <i>Mycoplasma pneumoniae</i>	Aspirat nazofarinksa, BAL, ostali uzorci po potrebi	Real time PCR	LightCycler 2.0 (Roche)
Detekcija <i>Bartonella spp.</i>	Punktat limfnog čvora, ostali uzorci po potrebi	Real time PCR	LightCycler 2.0 (Roche)
Detekcija <i>Kingella kingae</i>	Punktati, puna krv (epruveta ljubičasti čep-EDTA), likvor, ostali uzorci po potrebi	Real time PCR	LightCycler 2.0 (Roche)
PCR 16S rDNA	Bilo koji primarno sterilan uzorak, osim krvi i BAL-a	Konvencionalni PCR + DNK sekvenciranje	Negativan nalaz ne isključuje prisutnost manje količine bakterijske DNA u uzorku.
Detekcija BHS-B	Puna krv (epruveta ljubičasti čep-EDTA), likvor, ostali uzorci po potrebi	Real time PCR	LightCycler 2.0 (Roche)