



**Naučni institut za veterinarstvo Srbije
Institute of Veterinary Medicine of Serbia**

Janisa Janulisa br. 14, 11000 Beograd

Tel/fax: (+381 11) 285 10 96; +381 64 8080910

Tekući račun: 205-119923-92 PIB: 100378965 MAT.BR.: 07013159

UPUTSTVO ZA UZORKOVANJE MATERIJALA

Radi dobijanja pouzdanih i tačnih rezultata laboratorijskih analiza, od suštinskog značaja je pravilno uzorkovanje materijala. Prilikom uzorkovanja potrebno je pažljivo odabrati odgovarajući tip uzorka u skladu sa vrstom željene analize, kao i adekvatnu posudu za njegovo slanje. Svaki uzorak mora biti jasno i čitko obeležen (npr. identifikacija životinje), a uz njega je obavezno priložiti popunjen laboratorijski uput koji se nalazi u prilogu ovog dokumenta. Uzorci se moraju dostaviti u laboratoriju u najkraćem mogućem roku nakon uzorkovanja. Do trenutka slanja potrebno ih je čuvati na temperaturi frižidera (2–8 °C) i strogo poštovati pravila održavanja hladnog lanca tokom transporta, kako bi se očuvala stabilnost i integritet uzorka.

POSUDE I MATERIJAL ZA UZORKOVANJE

Epruveta sa ljubičastim poklopcem

Sadrži antikoagulans EDTA. Telesne tečnosti je potrebno uzorkovati do označene linije na epruveti. Epruvetu ne treba mućkati, već je blago promešati kako bi se antikoagulans ravnomerno rasporedio.

Koristi se za uzorkovanje pune krvi i drugih telesnih tečnosti (npr. cerebrospinalni likvor, eksudati, efuzije) namenjenih citološkom pregledu, hematološkim, molekularnim i serološkim analizama.

Epruveta sa žutim poklopcem

Sadrži aktivator koagulacije i separator gel koji ubrzavaju koagulaciju i olakšavaju odvajanje seruma.

Neophodno je napuniti epruvetu do označene linije, ne mućkati, već je ostaviti da se ugrušak formira tokom 15–20 minuta. Nakon toga epruvetu treba centrifugirati na 1,000–2,000 × g tokom 10 minuta.

Epruvetu sa serumom zatim poslati u laboratoriju, bez odvajanja seruma. Koristi se za uzorkovanje seruma namenjenog serološkim, biohemijskim i endokrinološkim analizama.

Epruveta sa crvenim poklopcem

Sadrži aktivator koagulacije koji ubrzava proces zgrušavanja. Uzorkovati do označene linije, ne mućkati, a zatim centrifugirati na 1,000–2,000 × g u trajanju od 10 minuta. Nakon centrifugiranja,

odliti serum i čuvati ga do slanja. Koristi se za uzorkovanje seruma za serološke, biohemijske i endokrinološke analize.

eSwab



Sadrži AMIES transportnu podlogu koja omogućava duže očuvanje uzoraka, čak i na sobnoj temperaturi. Bakterije ostaju stabilne do 48 sati na sobnoj temperaturi ili u frižideru. Preporučuje se za mikrobiološke i molekularne analize, posebno kada se očekuje da će proći više od 12 sati do prijema uzorka u laboratoriju. Ne preporučuje se za uzorkovanje dlake.

Sterilni bris



Koristi se za uzorkovanje materijala namenjenog mikrobiološkim analizama kada se uzorci dostavljaju u laboratoriju u roku od 24 sata i molekularnim analizama. Ukoliko transport do laboratorije duže traje, bris treba navlažiti sterilnim fiziološkim rastvorom (3-5 kapi), naročito ako će uzorak prenočiti u frižideru.

Posuda za urin/Posuda za feces



Posude ne sadrže aditive i mogu se koristiti za uzorkovanje različitih vrsta materijala: urina, fecesa, dlake, telesnih tečnosti, tkiva, mleka, skarifikata i dr.

Urin

Za mikrobiološka ispitivanja, uzorkovanje urina je najpouzdanije kada se vrši cistocentezom. Ako se uzima pri spontanom uriniranju, preporučuje se prvi jutarnji urin, nakon odbacivanja prvog mlaza. Uzorak treba prikupiti u sterilnu posudu i dostaviti u laboratoriju istog dana. Urin se čuva na sobnoj temperaturi do analize. Potrebno je navesti metodu uzorkovanja (cistocenteza, kateterizacija). Ako nije navedeno, uzorak se obrađuje kao da je uzet spontanim uriniranjem.

Napomena: komercijalne podloge za urin (npr. *Uricult®*) prilagođene su ljudskoj mikroflori i nisu uvek pogodne za veterinarske uzorke.

Feces

U zavisnosti od vrste analize, feces se može uzorkovati u posudu za urin/feces ili pomoću rektalnog brisa. Za optimalne rezultate parazitoloških ispitivanja potrebno je dostaviti oko 5-10 g fecesa, po traženoj analizi, po mogućstvu iz tri uzastopna izlučivanja. Za ispitivanje na salmonelozu uzorak treba biti veći od 25 g.

Dlaka



Dostaviti desetak iščupanih dlaka sa ruba promene. U slučajevima alopecije, uzeti blagu strugotinu/skarifikat sa ivice promenjenog dela kože.

Skarifikati (strugotine) kože

Pažljivo skalpelom uzeti uzorak skarifikata kože sa rubova promene i zatvoriti u posudu sa poklopcem.

Organi/Tkivo

Za molekularne analize dostaviti 5-10 g svežeg ili zamrznutog tkiva u posudi za urin/feces. Uzorak uzeti na granici zdravog i promenjenog tkiva.

Mleko

Kod pasa i mačaka, uzorak mleka uzeti izmuzavanjem direktno na sterilni bris, bez dodira sa kožom. Pre uzorkovanja, kožu dezinfikovati i sačekati nekoliko minuta pre izmuzavanja.

Ektoparaziti

Prikupljene ektoparazite staviti u posudu sa poklopcem sa 70% etanolom.

VIRUSOLOGIJA							
Bolest	Puna krv	Serum	Bris	Feces	Tkivo	Telesne tečnosti	Dlaka
Štenećak (CDV)	●	● ●	Nazofaringealni		Mozak	CST	
Parvovirus pasa (CPV)	●		Rektalni	■	Tanko crevo		
Herpesvirus pasa (CHV)	●		2x vaginalni/prepucijalni Nazofaringealni, konjuktivalni		Pobačeni plod, placenta	Sperma trahealni ispirak	
Infektivni hepatitis pasa (CAV1)	●		2x vaginalni/prepucijalni Nazalni, rektalni ili konjuktivalni	■	Jetra ili bubreg		
Adenovirus pasa tip 2 (CAV2)			Nazofaringealni, konjuktivalni ili rektalni	■	Pluća		
Koronavirus pasa (CCV)			Rektalni	■			
Morbus Aujeszky (PRV)					Mozak	CST	
Leukemija mačaka (FeLV)	●	● ●				Eksudat	
Imunodeficijencija mačaka (FIV)	●						
Herpesvirus mačaka (FHV)	●		Nazofaringealni, konjuktivalni, oralni, bris lezije ili kruste				
Kalicivirus mačaka (FCV)			Nazofaringealni			Trahealni ispirak	
Koronavirus mačaka (FCoV, FIP)	●		Rektalni	■	Promenjeni organ	Eksudat CST	

Bolest	Puna krv	Serum	Bris	Feces	Tkivo	Telesne tečnosti	Dlaka
Panleukopenija mačaka (FPV)			Rektalni				
Hepatitis B mačaka (DCH)		 			Jetra		
BAKTERIOLOGIJA I PARAZITOLOGIJA							
Bolest	Puna krv	Serum	Bris	Feces	Tkivo	Telesne tečnosti	Dlaka
Bakteriološki pregled - aerobno ispitivanje			 				
Bakteriološki pregled - anaerobno ispitivanje					Bioptat		
Bakteriološki pregled na <i>Salmonella</i> sp.							
Izolacija gljivica i plesni							
Bakteriološki pregled kože kućnih ljubimaca sa dermatofitima i antibiogramom							
Urinokultura sa antibiogramom						Urin	
Koprološki pregled							

Bolest	Puna krv	Serum	Bris	Feces	Tkivo	Telesne tečnosti	Dlaka
Pregled kutanih isečaka na ektoparazite					Bioptat kože Skarifikat		
Pregled krvnih razmaza	●						
Pregled krvi pasa na babeziozu	●						
Pregled krvi pasa na dirofilariozu, erlihiozu, boreliozu i anaplazmozu	●						
Ispitivanje na <i>Dirofilaria</i> spp. brzi test	●						
Ispitivanje na dirofilariozu (Knott-ov test)	●						
Ispitivanje na <i>Leishmania</i> spp. ELISA		● ●					
Ispitivanje na <i>Ehrlichia canis</i> ELISA		● ●					
Leptospiroza (MAT)		● ●					
Leptospiroza (PCR)						Urin	
Bruceloza (PCR)			Vaginalni			Sperma, bioptat, tkivo	
Hlamidioza (PCR)			Kloakalni, nosni, bris oka				

Bolest	Puna krv	Serum	Bris	Feces	Tkivo	Telesne tečnosti	Dlaka
Izolacija <i>Campylobacter</i> sp. sa antibiogramom			◆				
Biološka kontrola rada autoklava/suvog sterilizatora			Obezbeđen set za proveru				
Kontrola sterilnosti			◇				

Za dobijanje pouzdanih rezultata ispitivanja neophodno je obezbediti odgovarajući tip uzorka i dostaviti ga u laboratoriju u najkraćem mogućem roku nakon uzorkovanja. U zavisnosti od vrste uzorka, potrebno ga je čuvati na sobnoj temperaturi, u frižideru (oko +4 °C) ili zamrznuti na -20 °C, do trenutka slanja.

Uzorke krvi za serološka ispitivanja nakon uzorkovanja držati par sati na sobnoj temperaturi kako bi se izdvojio serum, a nakon toga čuvati u frižideru do momenta slanja. Za serološka ispitivanja koristiti epruvetu sa crvenim ili žutim poklopcem.

Brisevi za bakteriološka ispitivanja koji se dopremaju u laboratoriju istog dana kada se vrši uzorkovanje čuvaju se na sobnoj temperaturi, dok one koji u laboratoriju stižu sutradan, nakon uzorkovanja treba nakvasiti sterilnim fiziološkim rastvorom (3-5 kapi) i držati u frižideru. U zavisnosti od potrebne analize koristiti sterilni bris ili eSwab. Za kontrolu rada autoklava/suvog sterilizatora, po najavi ispitivanja, dostavljamo odgovarajući set koji se stavlja u autoklav/sterilizator.

Najčešće je bakterijama potrebno 24 h da porastu i još 24 h za određivanje antibiograma, osim kod specifičnih slučajeva (*Salmonella*, *Campylobacter* i dr.) kada se prate posebni protokoli koji traju 3-5 dana.

Trajanje ispitivanja na dermatofitne gljivice je 14 dana.

Uzorke za molekularna ispitivanja potrebno ga je čuvati u frižideru, ukoliko se dostavljaju u roku od 24 sata. Ako se očekuje da transport traje duže od 24 sata, uzorke za molekularna ispitivanja treba zamrznuti do trenutka slanja. Zavisno od vrste materijala, za molekularne analize se mogu koristiti: epruvete sa ljubičastim žutim, ili crvenim poklopcem, sterilni brisevi ili sterilne posude za urin/feces. Za izvođenje molekularnih metoda ne smeju se koristiti epruvete sa heparinom (zeleni poklopac), jer heparin može inhibirati PCR reakcije. Takođe, brisevi koji sadrže transportne podloge ili medijume nisu pogodni, osim u slučaju eSwab sistema koji sadrži AMIES transportnu podlogu kompatibilnu sa molekularnim dijagnostičkim testovima.

Uzorke je potrebno jasno obeležiti i za svaku životinju pojedinačno popuniti uput za laboratorijsko ispitivanje.