



DODATEK NR 3

DO INFORMATORA

Badania z zakresu Mikrobiologii
Wojewódzkie Wielospecjalistyczne Centrum Onkologii i Traumatologii
im. M. Kopernika w Łodzi

Spis treści

1. Laboratorium Mikrobiologiczne – informacje ogólne	3
2. Pobieranie materiału do badań	3
2.1. Przygotowanie pacjenta do badań	4
2.2. Czynniki wpływające na wynik badania	4
2.3. Skierowania/zlecenia na badania	5
2.4. Identyfikacja pacjenta i próbek	5
2.5. Materiały używane do pobierania materiału na badania mikrobiologiczne	6
2.6. Pobieranie krwi na posiew	7
2.6.1. Zasady ogólne	9
2.6.2. Procedura pobierania krwi	10
2.7. Pobieranie fragmentu (końcówki) cewnika naczyniowego	13
2.8. Pobieranie PMR	13
2.9. Pobieranie płynów z jam ciała	14
2.10. Pobieranie materiałów śródoperacyjnych na badania mikrobiologiczne	15
2.11. Pobieranie materiału z zakażeń skóry i tkanek miękkich	15
2.12. Pobieranie materiału z narządu wzroku	18
2.13. Pobieranie materiału z dolnych dróg oddechowych	18
2.14. Pobieranie materiałów na posiew z górnych dróg oddechowych	20
2.14.1. Pobieranie wymazu z gardła w kierunku anginy Plaut-Vincenta	21
2.15. Pobieranie moczu na posiew	21
2.15.1. Nakłucie nadłonowe pęcherza moczowego	22
2.15.2. Diagnostyczne cewnikowanie pęcherza moczowego	22
2.15.3. Pobieranie moczu od pacjentów cewnikowanych w sposób ciągły	23
2.15.4. Pobieranie moczu ze środkowego strumienia	23
2.16. Pobieranie materiału z dróg moczowo-płciowych	24
2.16.1. Wymaz z pochwy	24
2.16.2. Wymaz z cewki moczowej/kanalu szyjki macicy	24
2.16.3. Nasienie	25
2.17. Pobieranie materiału w kierunku diagnostyki zakażeń jelitowych	25
2.17.1. Kał na posiew	25
2.17.2. Kał na badanie parazytologiczne	25
2.18. Pobieranie materiału na badania przesiewowe w kierunku nosicielstwa/kolonizacji	26
2.19. Pobieranie materiału post mortem	26
2.20. Pobieranie materiału na badania czystości mikrobiologicznej środowiska	27
2.20.1. Badanie czystości mikrobiologicznej powierzchni	27
2.20.1.1. Metoda pośrednia, jakościowa (metoda wymazów)	27
2.20.1.2. Metoda bezpośrednia, ilościowa (metoda odcisków)	27
2.20.2. Badanie czystości mikrobiologicznej powietrza	27
2.20.2.1. Metoda sedymentacji	27

3. Przyjęcie materiału do badań.....	28
4. Przygotowanie materiału do badań.....	29
5. Dokumentowanie niezgodności na etapie przedanalizycznym.....	29
6. Badania zlecone w trybie pilnym.....	29
7. Badania zlecane telefonicznie.....	29
8. Przechowywanie materiału do badań.....	30
9. Przechowywanie materiału po wykonaniu badań.....	30
10. Utylizacja materiału biologicznego.....	30
11. Wydawanie sprawozdań z badań.....	30
12. Wyniki alarmowe (krytyczne).....	30

1. Laboratorium Mikrobiologiczne – informacje ogólne

Laboratorium Mikrobiologiczne funkcjonuje w strukturach Zakładu Diagnostyki Laboratoryjnej WWCOiT im. M. Kopernika w Łodzi. Działa przez 7 dni w tygodniu, od poniedziałku do piątku w godzinach 7.30 – 20.00, w soboty, niedziele i dni wolne od pracy w godzinach 8.00 – 20.00.

Laboratorium Mikrobiologiczne wykonuje badania z zakresu szeroko pojętej mikrobiologii klinicznej:

- bakteriologii i mykologii – bezpośrednie badanie mikroskopowe, hodowla, identyfikacja i oznaczanie lekowrażliwości bakterii tlenowych i beztlenowych oraz grzybów o znaczeniu klinicznym,
- parazytologii – wykrywanie antygenów pasożytów jelitowych, badanie koproskopowe w kierunku jaj i cyst pasożytów,
- wirusologii – wykrywanie antygenów w materiale klinicznym.

Uzupełnieniem metod klasycznych są wykonywane w Laboratorium badania molekularne w kierunku patogenów bakteryjnych (wraz z wykrywaniem wybranych genów oporności na antybiotyki), wirusów, grzybów i pasożytów. Krótki czas oczekiwania na wynik, szeroki zakres wykrywanych drobnoustrojów, a także informacja na temat ich lekowrażliwości wpływają na skrócenie procesu leczenia pacjenta (możliwość szybkiego podejmowania decyzji terapeutycznych) i mają korzystny wpływ na sytuację epidemiologiczną Szpitala.

Działalność Laboratorium Mikrobiologicznego obejmuje również wykonywanie badań służących monitorowaniu czystości mikrobiologicznej środowiska szpitalnego, oceny jałowości preparatów wytwarzanych przez aptekę szpitalną i realizowaniu innych zadań związanych z kontrolą zakażeń szpitalnych.

Badania są wykonywane zgodnie z wytycznymi ośrodków referencyjnych, z zastosowaniem wysokiej klasy nowoczesnego sprzętu laboratoryjnego i objęte są systemem kontroli wewnątrzlaboratoryjnej i zewnątrzlaboratoryjnej.

Dane kontaktowe do Laboratorium Mikrobiologii podane są w formularzu „Dane kontaktowe do Zakładu Diagnostyki Laboratoryjnej” (załączniku nr 2 do Informatora). Dokument dołączony jest do niniejszego Dodatku.

2. Pobieranie materiału do badań

Zasady ogólne:

- Osoba pobierająca materiał do badania powinna stosować środki ochrony osobistej (fartuch, rękawiczki jednorazowe, w razie potrzeby okulary ochronne, gogle, maseczkę, przyłbicę itp.).
- Przed pobraniem materiału należy przygotować niezbędny sprzęt. Narzędzia, pojemniki, wymazówki i pozostały sprzęt wchodzący w bezpośredni kontakt z tkankami chorego i próbkami musi być sterylny.
- Przed pobraniem materiału osoba pobierająca powinna umyć i zdezynfekować ręce zgodnie z aktualną Standardową procedurą mycia i dezynfekcji rąk, założyć jednorazowe rękawiczki. Dezynfekcję rąk należy wykonać również po zdjęciu rękawiczek.

- Pobrany materiał powinien być przesłany do laboratorium w szczelnie zamkniętych, zabezpieczonych przed otwarciem lub uszkodzeniem pojemnikach, oznakowanych w sposób umożliwiający jednoznaczną identyfikację próbki.
- W przypadku zlecenia różnych kierunków badań (bakterie tlenowe, beztlenowe, posiew mykologiczny) z wymazu, do każdego kierunku badania dostarczyć oddzielną wymazówkę (trzy kierunki badań = trzy wymazówki).
- Wszystkie materiały powinny zostać niezwłocznie dostarczone do laboratorium. W przypadku braku możliwości dostarczenia próbek bezpośrednio po pobraniu – materiał należy pobierać do odpowiedniego podłoża transportowego i/lub zapewnić odpowiednie warunki przechowywania.
- W przypadku pobierania materiału samodzielnie przez pacjenta (np. mocz na posiew, kał, nasienie), powinien być on dokładnie poinstruowany o zasadach prawidłowego pobierania i transportu do laboratorium tego materiału.
- W sytuacjach wątpliwych i niejednoznacznych (np. planowane zlecenie badania mikrobiologicznego materiału niewymienionego poniżej), należy przed pobraniem materiału skonsultować się z pracownikiem laboratorium.

2.1. Przygotowanie pacjenta do badań

Materiał do badań należy pobierać we wczesnym okresie choroby, w fazie ostrej zakażenia, przed rozpoczęciem leczenia środkami przeciwdrobnoustrojowymi (antybiotyki, leki przeciwgrzybicze) lub 3-5 dni po i ich odstawieniu. W przypadku konieczności przeprowadzenia badania w trakcie terapii przeciwdrobnoustrojowej, należy poinformować o tym fakcie laboratorium, zamieszczając informację na skierowaniu (jeśli dotyczy) lub w zleceniu w systemie AMMS (nazwa, sposób podawania leku, czas leczenia).

Szczegółowe informacje na temat przygotowania pacjenta zostaną zamieszczone w opisach pobierania poszczególnych materiałów.

2.2. Czynniki wpływające na wynik badania

Na wiarygodność wyniku badania mikrobiologicznego ma wpływ wiele czynników. Należą do nich:

- dobór materiału diagnostycznego, **adekwatnego** do toczącego się zakażenia/procesu chorobowego (materiał z miejsca zakażenia + krew na posiew, gdy prawdopodobny jest rozsiew drobnoustrojów drogą krwi),
- właściwa technika pobrania,
- ilość pobranego materiału (wielkość/objętość próbki),
- stosowana wcześniej terapia przeciwdrobnoustrojowa (patrz pkt. 2.1) lub interferencja innych czynników chemicznych,
- nadmierna podaż płynów (przewodnienie pacjenta) – ryzyko uzyskania fałszywie ujemnego wyniku posiewu moczu,
- czas pobrania materiału (np. pobranie krwi na posiew ok. 30 minut przed szczytem gorączki),

- staranność personelu pobierającego w przygotowaniu pacjenta i/lub miejsca pobrania materiału do badania (zachowanie sterylności, ograniczenie czynników mogących spowodować zanieczyszczenie mikrobiologiczne materiału, np. prawidłowa higiena okolic krocza przed pobraniem moczu, prawidłowo przeprowadzona procedura dezynfekcji skóry przed pobraniem krwi na posiew, oczyszczenie rany przed pobraniem wymazu),
- sposób zabezpieczenia materiału (np. pobranie z użyciem sprzętu niesterylnego, umieszczenie materiału w niesterylnym pojemniku, kontakt z tlenem materiału kierunku bakterii beztlenowych),
- czas i warunki transportu i przechowywania próbki.

2.3. Skierowania/zlecenia na badania

Zlecenia na badania mikrobiologiczne wypełniane są elektronicznie w systemie AMMS dla pacjentów szpitalnych (z oddziałów i poradni specjalistycznych) lub bezpośrednio w punktach pobrań dla pacjentów prywatnych.

2.4. Identyfikacja pacjenta i próbek

Możliwość jednoznacznego przyporządkowania materiału biologicznego do pacjenta jest warunkiem wykonania badania mikrobiologicznego. Personel pobierający materiał ma obowiązek sprawdzenia danych pacjenta znajdujących się na skierowaniu/protokole pobrania z danymi w dokumencie potwierdzającym tożsamość lub opasce identyfikacyjnej pacjenta szpitalnego oraz prawidłowego, jednoznacznego oznakowania próbek i skierowania/protokołu pobrania za pomocą kodów kreskowych. Kod kreskowy stanowi jednocześnie numer laboratoryjny, który będzie wczytany/wpisany w LIS w trakcie rejestracji badań. Osoba pobierająca materiał ma obowiązek sprawdzenia bezpośrednio przed pobraniem, czy nadany numer laboratoryjny na skierowaniu/protokole pobrania jest identyczny z numerem laboratoryjnym na próbce, pojemniku, wymazówce itp. (dotyczy wszystkich próbek, jeśli więcej niż jedna).

Etykietę z kodem kreskowym należy nakleić tak, aby zawartość próbki/pojemnika z materiałem była widoczna dla pracowników Laboratorium w celu oceny jej jakości i wykluczenia błędu przedlaboratoryjnego. Nie należy naklejać numeru laboratoryjnego na nakrętkę pojemnika, na opakowanie zewnętrzne, ani na pojemnik transportowy. W przypadku butelek z podłożem systemu automatycznego posiewu krwi i płynów ustrojowych kod kreskowy należy nakleić w taki sposób, aby nie zasłaniał kodu kreskowego butelki, ani znacznika poziomu napełnienia butelki.

Laboratorium Mikrobiologiczne, w zależności od rodzaju badania posługuje się oryginalnym kodem kreskowym (badania zakończone w tym samym dniu) lub numerem wewnętrznym, który stanowi numer książki w LIS.

Jeżeli nie ma możliwości automatycznego wprowadzenia kodu próbki do systemu lub analizatora, można (w większości przypadków) to zrobić ręcznie, jednak należy pamiętać, że takie działanie generuje ryzyko popełnienia błędu i wymaga szczególnej uwagi.

2.5. Materiały używane do pobierania materiału na badania mikrobiologiczne

Nazwa	Zdjęcie	Materiał/badania
Jałowy pojemnik na mocz umożliwiający bezigłowy transfer próbki moczu do probówki		Mocz na posiew
Sterylna probówko-strzykawka z kwasem bornym		Mocz na posiew
Jałowy pojemnik na mocz		Mocz na posiew Jałowe płyny ustrojowe Plwocina i inny materiał z dolnych dróg oddechowych Fragmenty tkanek, biopsjaty Biomateriały (np. końcówka cewnika, implant itp.) Nasienie – posiew ilościowy Posiew w kierunku bakterii tlenowych, grzybów, testy kasetkowe (np. wykrywanie antygenów bakteryjnych w moczu)
Jałowy pojemnik na kał z łopatką		Kał na posiew i szybkie testy immunochromatograficzne (kasetkowe)
Pojemnik na kał niejałowy z łopatką		Kał na szybkie testy immunochromatograficzne (kasetkowe) i badania parazytologiczne
Zestaw do pobierania kału na badanie parazytologiczne		Kał w kierunku pasożytów jelitowych
Zestaw do badania w kierunku owsika ludzkiego		Badanie w kierunku owsicy

Butelki z podłożem transportowo-namnażającym do krwi i jałowych płynów ustrojowych		Posiew krwi i jałowych płynów ustrojowych w kierunku bakterii tlenowych, beztlenowych i grzybów (dobór butelek zgodny z ich przeznaczeniem)
Wymazówka sterylna z probówką transportową (trzonki i aplikatory adekwatnie do rodzaju pobieranego materiału, miejsca pobrania i kierunku badania)		Wymazy w kierunku bakterii tlenowych i grzybów drożdżopodobnych gdy możliwy jest natychmiastowy transport do laboratorium Wymaz/materiał do wykonania bezpośredniego preparatu mikroskopowego
Wymazówka z żelowym podłożem transportowym Amies		Wymazy z w kierunku bakterii beztlenowych Wymazy w kierunku bakterii tlenowych i beztlenowych, grzybów drożdżopodobnych gdy przewidywany jest dłuższy (> 2 godz.) czas transportu i/lub przechowywania (48 godz.)
Wymazówka z podłożem transportowym z węglem aktywnym		Wymazy z w kierunku bakterii beztlenowych Wymazy w kierunku wrażliwych bakterii tlenowych i beztlenowych gdy przewidywany jest dłuższy (> 2 godz.) czas transportu i/lub przechowywania (48 godz.)
Jałowe pojemniki na materiał (dobór pojemnika w zależności od rodzaju, wielkości/objętości próbki)		Jałowe płyny ustrojowe Plwocina i inny materiał z dolnych dróg oddechowych Fragmenty tkanek Biomateriały (np. końcówka cewnika, implant itp.)
Sterylna probówka z korkiem		Płyn mózgowo-rdzeniowy na posiew i badanie molekularne

Tabela nr 1 Materiały i sprzęt jednorazowy używane do pobierania materiału na badania mikrobiologiczne

2.6. Pobieranie krwi na posiew

Szczegółowe wskazania do pobrania krwi na posiew zawiera poniższa tabela.

Dorośli i dzieci > 12 r. ż.

- założony cewnik naczyniowy centralny lub dotętniczy,
- podejrzenie bakteryjnego zapalenia wsierdza,
- ciepłota ciała $>38^{\circ}\text{C}$ lub $<36^{\circ}\text{C}$ plus dwa z następujących objawów/parametrów: wiek > 65 lat, dreszcze, wymioty, spadki ciśnienia, leukocytoza $>18\ 000/\mu\text{l}$, odsetek granulocytów $>80\%$, trombocytoza $<150\ 000/\mu\text{l}$, stężenie kreatyniny we krwi $>2\ \text{mg/dl}$, objawy niewydolności oddechowej,
- pacjent z ciężkim zapaleniem płuc wymagający przyjęcia na OIT lub z asplenią, neutropenią, wysiękiem opłucnowym, wytworzeniem jamy w płucach w przebiegu zakażenia oraz przy współistnieniu alkoholizmu lub ciężkiego, przewlekłego schorzenia wątroby,
- podejrzenie urosepsy u chorych z nawracającymi ZUM lub niepowodzeniami terapeutycznymi,
- ZUM z zaburzeniami czynnościowymi lub anatomicznymi układu moczowego oraz u pacjenta starszego,
- objawy odmiedniczkowego zapalenia nerek u kobiet w okresie przedmenopauzalnym, niebędących w ciąży (nieustępujące, nawracające mimo leczenia lub atypowe),
- objawy septyczne u pacjentów z założonym cewnikiem moczowym lub innym cewnikiem wprowadzonym do pęcherza moczowego,
- zapalenie otrzewnej z objawami septycznymi lub u pacjenta w immunosupresji,
- podejrzenie ZOMR,
- zapalenie stawów, kości lub szpiku,
- występowanie co najmniej jednego z objawów/parametrów, niedający się wytłumaczyć inną przyczyną: tętno $>130/\text{min.}$, nagła zmiana zachowania, częstość oddechu $>25/\text{min.}$, potrzeba podania minimum 40% tlenu, aby utrzymać saturację na poziomie 92% (lub 88% w przypadku pacjentów z POChP) w sytuacji, gdy nie można wykonać badania gazometrycznego, skurczowe ciśnienie krwi $<90\ \text{mmHg}$ lub obniżone o $>40\ \text{mmHg}$ w stosunku do normy dla pacjenta, anuria przez co najmniej 18 godz. lub oddanie $<0,5\ \text{ml/kg}$ masy ciała moczu/godz. w przypadku pacjentów cewnikowanych, zsinienie skóry, warg lub języka, nieblednąca wysypka skórna.

Dzieci młodsze (< 12 r.ż.) i pacjenci neonatologiczni

Wskazania jw. i dodatkowo:

Noworodki z oddziałów intensywnej terapii neonatologicznej (OITN), urodzone przedwcześnie	Niemowlęta do 90. dnia życia urodzone w terminie	Dzieci w wieku od 3. miesiąca do 12. roku życia
• podejrzenie zakażenia, • wystąpienie u matki zapalenia błon płodowych i łożyska, • brak wdrożenia profilaktyki zakażenia GBS mimo wskazań i jednocześnie odejście wód płodowych >18 godz. przed porodem lub poród przed 37. t. c. • podejrzenie wczesnej lub późnej sepsy lub zakażenia uogólnionego związanego z centralną linią naczyniową	temperatura ciała $\geq 38^{\circ}\text{C}$ oraz wystąpienie jednego z czynników: wiek < 28 dni, leukocytoza $< 5000/\mu\text{l}$ lub $> 15000/\mu\text{l}$, liczba neutrofilów z jądrem pałeczkowatym powyżej $1500/\mu\text{l}$, > 10 leukocytów w p. w. w mikroskopowym badaniu osadu moczu, częstość tętna: $> 180/\text{min}$ lub $< 100/\text{min}$ u niemowląt do 1. mż.; $< 180/\text{min}$ lub $> 90/\text{min}$ u niemowląt pomiędzy 1. a 3. mż., częstość oddechów: $> 50/\text{min}$ u noworodków do 1. tż., $40/\text{min.}$ u niemowląt pomiędzy 8-30 dż., $34/\text{min.}$ u niemowląt $> 1.\text{mż.}$, objawy niespecyficzne dla sepsy , np.: senność, niechęć do jedzenia, bezdechy, wzrost zapotrzebowania na tlen	wystąpienie jednego lub więcej z poniższych objawów/parametrów: gorączka $>38^{\circ}\text{C}$ lub $<36^{\circ}\text{C}$, zmiana w zachowaniu, zachowania nietypowe (nadmierne pobudzenie lub apatia, problemy z dobudzeniem dziecka), wysypka na skórze towarzysząca objawom infekcji, częstość tętna: $> 180/\text{min}$ lub $< 90/\text{min}$ u niemowląt w wieku 3–12 miesięcy, $> 140/\text{min}$ u dzieci w wieku 2–5 lat, $> 130/\text{min}$ u dzieci w wieku 6–12 lat, częstość oddechów większa niż: $34/\text{min}$ u niemowląt w wieku 3–12 miesięcy, $22/\text{min}$ u dzieci w wieku 2–5 lat, $18/\text{min}$ u dzieci w wieku 6–12 lat
Wszyscy pacjenci pediatryczni bez względu na wiek		
• bakteryjne zapalenie płuc o umiarkowanym lub ciężkim przebiegu oraz powikłane, • objawy ZUM, w przypadku kiedy badanie ogólne moczu nie jest wystarczające do potwierdzenia lub wykluczenia zakażenia		

Tabela nr 2 Wskazania do pobrania krwi na posiew z uwzględnieniem grup wiekowych (wg Zasady diagnostyki zakażeń krwi, Rekomendacje Grupy Ekspertów pod redakcją Marzenny Bartoszewicz)

2.6.1. Zasady ogólne

- Jeżeli to możliwe, krew na posiew powinna zostać pobrana przed rozpoczęciem antybiotykoterapii. Jeśli pacjent otrzymuje już terapię przeciwdrobnoustrojową, krew należy pobrać przed podaniem kolejnej dawki leku, gdy jego stężenie w surowicy jest najniższe.
- Przy obserwowanych cyklicznych wzrostach temperatury, krew należy pobierać około 30 minut przed spodziewanym „szczytem” gorączki. Jeżeli nie można przewidzieć tego momentu, materiał należy pobrać w trakcie narastania gorączki lub niezwłocznie po stwierdzeniu wzrostu temperatury. Nie zaleca się pobierania krwi na „szczycie” gorączki.
- Krew na posiew powinna być pobierana z naczynia obwodowego. W celu otrzymania wiarygodnych wyników hodowli, zaleca się pobieranie z dwóch różnych, oddalonych od siebie żył (np. kończyn górnych). W przypadku trudności z uzyskaniem krwi żyłnej, dopuszcza się pobranie materiału z tętnicy obwodowej.
- Krwi na posiew nie wolno pobierać z istniejących dostępów naczyniowych, z wyjątkiem podejrzenia zakażenia związanego z założonym cewnikiem naczyniowym. W takiej sytuacji należy pobrać materiał przez założony cewnik oraz drugą próbkę z nowego wkłucia.
- Dobór zestawu podłoży (butelek) powinien uwzględniać ich przeznaczenie, rozpoznanie kliniczne i wiek pacjenta. Rozróżnianie podłoży ułatwia barwne oznakowanie korków i etykiet. Laboratorium pracuje z wykorzystaniem dwóch systemów automatycznych do posiewu krwi i podłożach opisanych w tabeli poniżej.
- Nie używać butelek z przekroczonym terminem ważności i o zmienionym wyglądzie podłoża (zmętnienie, zmiana zabarwienia, obecność strąków itp.).

Podłoże/Producent	Kolor etykiety i korka	Zastosowanie	Zalecana objętość próbki
BacT/ALERT FA Plus/BioMerirux	Zielony jasny	Podłoże do namnażania i wykrywania bakterii tlenowych i grzybów drożdżopodobnych od pacjentów w trakcie antybiotykoterapii	zakres dopuszczalny: 0,5 – 10 ml, opt. 10 ml
BacT/ALERT FN Plus/BioMerieux	Pomarańczowy	Podłoże do namnażania i wykrywania bakterii beztlenowych od pacjentów w trakcie antybiotykoterapii	zakres dopuszczalny: 0,5 – 4 ml, opt. 4 ml
BacT/ALERT PF Plus/BioMerieux	Żółty	Podłoże do namnażania i wykrywania mikroorganizmów tlenowych i względnie beztlenowych (bakterie i grzyby) we krwi pediatrycznej	zakres dopuszczalny: 3 – 10 ml, opt. 8 - 10 ml
BD BACTEC Mycosis IC/F / BD	Zielony ciemny	Podłoże z zawartością antybiotyków do selektywnego namnażania i wykrywania grzybów od pacjentów z obniżoną odpornością i/lub neutropenicznymi	zakres dopuszczalny: 3 – 10 ml, opt. 8 - 10 ml
BD BACTEC Lytic/10 Anaerobic/F / BD	Fioletowy	Podłoże z czynnikiem lizującym leukocyty o zwiększonym odzysku drobnoustrojów, do namnażania i wykrywania bakterii względnie i bezwzględnie beztlenowych oraz mikroaerofilnych. Butelka dostępna po uzgodnieniu z Laboratorium.	zakres dopuszczalny: 3 – 10 ml, opt. 8 - 10 ml

Tabela nr 3 Rodzaje butek z podłożami do systemów automatycznych hodowli drobnoustrojów z krwi i płynów ustrojowych używanych w WWCOIT im. Kopernika w Łodzi

W zależności od sytuacji klinicznej, należy pobrać odpowiednią objętość krwi do właściwych zestawów butelek. **Przez pojedynczą próbkę krwi na posiew u osoby dorosłej rozumie się materiał pobrany do zestawu butelek przeznaczonych do posiewu tlenowego i beztlenowego.** W razie potrzeby można zestaw uzupełnić o butelki do hodowli grzybów. Do każdej pobranej próbki krwi należy użyć takiego samego zestawu butelek. U dzieci nie pobiera się krwi do butelek w kierunku beztlenowców ze względu na niski odsetek bakteriemii o tej etiologii. Jedno pobranie zazwyczaj nie jest wystarczające do wykrycia czynnika etiologicznego bakteriemii, a w przypadku wzrostu bakterii wchodzących w skład mikroflory skóry uniemożliwia prawidłową interpretację wyniku (niemożliwe różnicowanie kontaminacji materiału od zakażenia). Niedopuszczalne jest wstrzykiwanie krwi z kilku próbek do jednej butelki.

Standardowo (ostra pierwotna bakteremia, fungemia, ZOMR, zapalenie płuc, zapalenie kości i stawów) zaleca się pobieranie **2-3 próbek na dobę**, najlepiej w ciągu co najmniej dwóch kolejnych dni (jeżeli stan kliniczny pacjenta nie ulega poprawie, a wyniki wcześniejszych posiewów krwi są ujemne).

Do **szczególnych sytuacji** wymagających modyfikacji schematu pobierania krwi na posiew należą:
Wskazanie do natychmiastowego podania antybiotyku

Pobrać krew na posiew z dwóch różnych wkłuć (dwie próbki jednocześnie = 4 butelki), a następnie podać antybiotyki.

Gorączka o nieznannej etiologii

Pobrać dwie próbki z dwóch różnych wkłuć w odstępie godzinny, powtórzyć badanie po 24 i 48 godzinach w przypadku ujemnych wyników dotychczasowych posiewów.

Podejrzenie infekcyjnego zapalenia wsierdza (IZW)

Ostre: Pobierać 3 posiewy z 3 różnych wkłuć w ciągu 1-2 godzin (w odstępie 30-minutowym).

Podostre: 3 posiewy z 3 różnych w ciągu doby. Jeśli wyniki są ujemne po 24 godzinach, należy wykonać 3 kolejne posiewy.

W IZW bakteremia ma przebieg ciągły i nie jest konieczne oczekiwanie na pobranie materiału przed szczytem gorączki.

Zakażenia odcewnikowe

Jedna próbka krwi pobrana przez cewnik/dojścia założonego na stałe, a druga z oddzielnego wkłucia. Przy pobieraniu krwi z cewnika centralnego odciągnąć co najmniej 2 ml krwi przed uzyskaniem właściwej próbki. Przy pobieraniu z dwóch różnych dostępów żylnych należy użyć odrębnych zestawów podłoż. Próbkę krwi należy pobrać w tym samym czasie, opisując ich pochodzenie (cewnik, obwód).

Gorączka neutropeniczna

Pobrać jednocześnie co najmniej dwa posiewy (2-3 = 4-6 butelek) krwi tj. z żyły obwodowej oraz z każdego cewnika założonego do żyły centralnej. Jeśli nie ma wkłuć centralnych należy pobrać przynajmniej dwa zestawy krwi z różnych wkłuć.

2.6.2. Procedura pobierania krwi

Przygotowanie pomieszczenia

Pomieszczenie, w którym będzie odbywać się procedura pobierania krwi na posiew musi zostać przygotowane w sposób minimalizujący ruch powietrza wewnątrz (zamknięcie drzwi i okien),

ograniczający dostęp mikrobioty innych pacjentów (izolatka, odgrodzenie parawanem) oraz zorganizowane w sposób umożliwiający swobodny dostęp osoby pobierającej zarówno do pacjenta, jak też do zestawu do pobierania krwi.

Przygotowanie zestawu do pobierania

Zestaw do pobierania krwi na posiew należy kompletować po uprzednim umyciu rąk wodą z mydłem.

W jego skład powinny wchodzić:

- rękawiczki jednorazowe (sterylne i niesterylne),
- taca z materiału możliwego do dezynfekcji,
- system zamknięty do bezpośredniego pobrania krwi do butelek hodowlanych lub jednorazowe igły i strzykawki,
- butelki z podłożem hodowlanym (ogrzone do temperatury pokojowej, opisane danymi pacjenta, okodowane w sposób niezaskłaniający kodu butelki i znacznika napełnienia butelki),
- preparaty do dezynfekcji skóry aktualnie używane w Szpitalu,
- jałowe gaziki,
- staza,
- plaster z opatrunkiem,
- pojemnik twardościenny na zużyte igły, pojemnik/worek na zużyte rękawiczki jednorazowe.

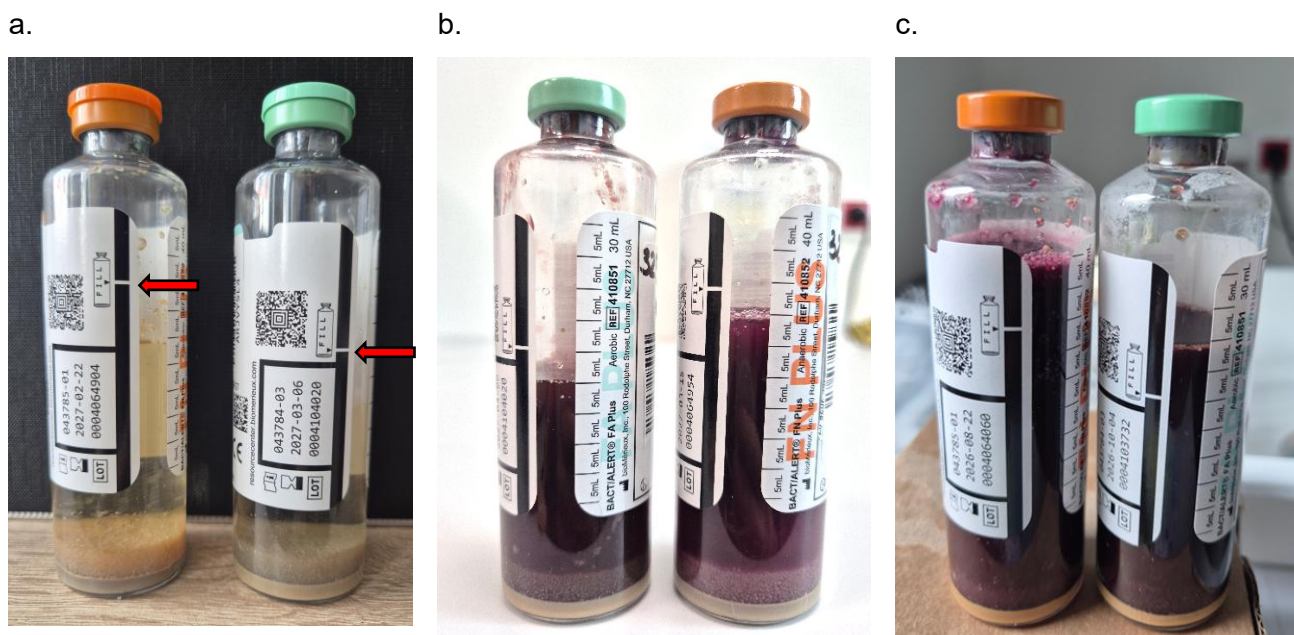
Pobieranie materiału

1. Przed przystąpieniem do pracy z pacjentem należy umyć ręce wodą z mydłem, wytrzeć do sucha, a następnie zdezynfekować środkiem do dezynfekcji skóry stosowanym w Szpitalu. Po wyschnięciu środka dezynfekcyjnego należy założyć rękawiczki jednorazowe. Po tej czynności należy zminimalizować kontakt z przedmiotami z otoczenia.
2. Do pobrania krwi należy wybrać odpowiednie miejsce, wolne od urazów i zmian skórnych. Dla ułatwienia wkłucia żylnego można zastosować opaskę uciskową (nie stosować przy pobraniu tętnicznym).
3. Kluczowym etapem pobierania krwi na posiew jest dezynfekcja skóry pacjenta w miejscu wkłucia oraz korków butelek po usunięciu plastikowej pokrywki. Ważny jest dobór środka dezynfekcyjnego i odpowiednio długi czas jego działania. Do dezynfekcji skóry należy użyć preparatu będącego produktem leczniczym o odpowiednich wskazaniach, na bazie alkoholu, alkoholowego roztworu powidonu jodu lub wodnego PVP-jod. Wymagana jest skuteczność wobec bakterii, w tym prątków gruźlicy, grzybów oraz wirusów w czasie kontaktu < 1 minuty. Korek butelki z podłożem należy zdezynfekować przy użyciu bezbarwnego preparatu alkoholowego bez dodatku substancji bakteriostatycznych (przed i po pobraniu). Należy stosować adekwatne środki dezynfekcyjne aktualnie obowiązujące w Szpitalu.

Okolicę miejsca wkłucia dezynfekować poprzez przecieranie sterylnym gazikiem nasączonym preparatem do dezynfekcji skóry wykonując ruchy odśrodkowe. Nie stosować preparatów w aerozolu. Obszar dezynfekowany nie może być mniejszy niż 3 cm od miejsca wkłucia. Odczekać do odparowania środka dezynfekcyjnego. Czynność dezynfekcji powtórzyć. Prawidłowo wykonana

dezynfekcja skóry ogranicza ryzyko kontaminacji i uzyskania wyniku fałszywie dodatniego. Po dezynfekcji pola wkłucia zdjąć rękawice niesterylne, przeprowadzić procedurę higienicznego mycia i dezynfekcji rąk i założyć rękawice medyczne sterylne. Zdezynfekowane pole nakłucia można dotykać tylko w sterylnych rękawiczkach.

4. Pobierając krew żylną przy użyciu systemu zamkniętego do pobierania krwi z igłą motylkową, przeciwną igłą kończąca dren jest wkładana bezpośrednio w zdezynfekowany korek butelki. Monitorując proces napełniania na skali etykiety wprowadzić odpowiednią objętość krwi do każdej butelki. W przypadku butelek Bact/ALERT FA PLUS i Bact/ALERT FN PLUS (butelki zestawu na posiew krwi w kierunku bakterii tlenowych i beztlenowych, bioMérieux), nie napełniać butelek powyżej znacznika znajdującego się na etykiecie (Ryc. nr 1. a, b, c).



Ryc. 1. Butelki do posiewu krwi systemu Bact/ALERT: a. przed pobraniem materiału czerwona strzałka wskazuje znacznik maksymalnego napełnienia butelki materiałem), b. prawidłowe napełnienie (poniżej znacznika), c. przekroczona zalecana objętość materiału (powyżej znacznika)

Należy uważnie obserwować proces pobierania krwi, aby nie dopuścić do przepływu wstecznego (cofnięcie podłoża do krwiobiegu)! Procedury bezpośredniego pobierania nie stosuje się do krwi z cewników naczyniowych lub portów do hemodializy, aby uniknąć zapadnięcia się kanału cewnika lub przepływu wstecznego zawartości butelki do krwiobiegu. Krew pobraną do strzykawki wstrzykiwać przy jej pionowym ustawieniu, kolejno do każdej butelki. Napełnianie wspomagane jest podciśnieniem panującym w butelce (podczas posiewu nie wolno mocno naciskać tłoka strzykawki, ponieważ grozi to rozpryskiwaniem krwi). Butelki napełniać w ilości optymalnej dla wybranego podłoża według znaczników na etykiecie butelki. Nie przekraczać maksymalnej objętości próbki (ryzyko uzyskania wyniku fałszywie ujemnego!). Poszczególne butelki z tego samego pobrania powinny być napełniane jednakową ilością materiału, co daje możliwość porównania czasu wzrostu drobnoustrojów.

Przy napełnianiu butelek należy zachować odpowiednią kolejność w zależności od użytego rodzaju igieł:

- w przypadku igły motylkowej w systemie zamkniętym w pierwszej kolejności powinna być napełniona butelka tlenowa, a następnie beztlenowa (aby tlen zamknięty w przewodach łącznika nie dostał się do butelki) i ewentualne dodatkowe,
- przy zastosowaniu igły ze strzykawką jako pierwszą powinno napełnić się butelkę beztlenową (aby tlen z końcowej objętości strzykawki nie dostał się do tej butelki), następnie tlenową i pozostałe.

W przypadku nieudanego wkłucia do światła naczynia, przy ponownej próbie należy zmienić igłę na nową.

5. Po pobraniu krwi zdjąć opaskę uciskową i usunąć igłę z żyły pacjenta. Zabezpieczyć jałowym opatrunkiem miejsce wkłucia.
6. Po wyjęciu igły z butelki powierzchnię korka ponownie zdezynfekować.
7. Igłę wraz ze strzykawką umieścić w pojemniku twardościennym na odpady medyczne.
8. Delikatnie, obracając butelkę należy wymieszać jej zawartość w celu ochrony przed tworzeniem się skrzepów.

Butelki z wprowadzonym materiałem są gotowe do przekazania do Laboratorium Mikrobiologicznego/transportu. Nie należy ich owijać dodatkowymi materiałami (bandaż, folia, ręczniki papierowe, lignina), wkładać do rękawiczek, oklejać wlotów plastrami, gazikami itp.

2.7. Pobieranie fragmentu (końcówki) cewnika naczyniowego

Badanie mikrobiologiczne cewnika naczyniowego wykonuje się tylko w przypadku podejrzenia zakażenia związanego z jego obecnością (objawy zakażenia miejscowego okolicy wkłucia lub zakażenia związanego z obecnością patogenów we krwi) równolegle z pobraniem krwi na posiew (jedna próbka z bezpośredniego nakłucia żyły, a druga przez cewnik utrzymywany w naczyniu). Posiew końcówki cewnika naczyniowego bez równoczesnego posiewu krwi pobranej z żyły nie ma znaczenia diagnostycznego. Rutynowe posiewy usuniętych cewników nie są zalecane.

Usunięcie cewnika z naczynia krwionośnego jest procedurą wykonywaną przez lekarza w warunkach pełnej aseptyki. Do badania mikrobiologicznego należy odciąć fragment końcówki o długości 3-5 cm i umieścić go w sterylnym pojemniku z tworzywa sztucznego z zachowaniem zasad aseptyki. Pojemnik szczelnie zamknąć. Niedopuszczalne jest umieszczenie fragmentu cewnika w żelowym podłożu transportowym. Dodatkowo, jeżeli istnieją przesłanki kliniczne (występują zmiany zapalne, ropa itp.), pobrać wymaz z miejsca wkłucia cewnika za pomocą jałowej wymazówki zwilżonej roztworem soli fizjologicznej.

2.8. Pobieranie PMR

PMR jest podstawowym materiałem do badań w przypadku **podejrzenia zakażenia OUN**. W sytuacji podejrzenia zakażenia o etiologii bakteryjnej, należy bezwzględnie wykonać **równolegle posiew krwi**.

Podstawową metodą pobierania PMR jest punkcja lędźwiowa. Nakłucie lędźwiowe wykonuje się zwykle pomiędzy IV a V kręgiem lędźwiowym, czyli poniżej dolnego końca rdzenia kręgowego, aby

uniknąć jego uszkodzenia przez igłę. Sporadycznie PMR pobiera się przez nakłucie podpotyliczne bezpośrednio ze zbiornika wielkiego oraz przez nakłucie komór bocznych mózgu. U osób z wodogłowiem z założoną zastawką komorowo-otrzewną w przypadku podejrzenia infekcji OUN, płyn należy pobierać bezpośrednio z zastawki.

W celu przeprowadzenia pełnej diagnostyki laboratoryjnej przy podejrzeniu ZOMR, PMR optymalnie należy pobrać do trzech probówek (objętość ~ 1 ml) w następującej kolejności:

- I - badania analityczne i cytologiczno-biochemiczne,
- II - badanie mikrobiologiczne (preparat + posiew),
- III – badanie molekularne, serologiczne.

W przypadku pobrania małej objętości materiału, lekarz podejmuje decyzję co do kierunku zleconych badań.

Ze względu na dużą wrażliwość na zmiany warunków środowiska bakterii wywołujących infekcje OUN, PMR należy dostarczyć jak najszybciej do laboratorium, nie dopuszczając do jego schłodzenia lub przegrzania i bez dostępu do działania promieni słonecznych. W przypadku transportu trwającego krócej niż 2 godziny, próbkę przewozić w termosie lub termotorbie w temperaturze 37°C. Jeżeli przewidywany czas między pobraniem, a dostarczeniem do laboratorium jest dłuższy niż 2 godziny, PMR należy pobrać do odpowiedniego podłoża transportowo-namnażającego (butelka systemu automatycznego do hodowli drobnoustrojów z krwi i jałowych płynów ustrojowych).

W przypadku opóźnienia opracowywania PMR lub jego transportu do laboratorium należy go zabezpieczyć przed ochłodzeniem (umieszczenie w ciepłarnie).

2.9. Pobieranie płynów z jam ciała

Warunkiem uzyskania wiarygodnego wyniku posiewu płynu z jamy ciała jest jego pobranie z zachowaniem zasad aseptyki (ograniczenie ryzyka kontaminacji i tym samym uzyskania wyniku fałszywie dodatniego), wybór prawidłowego kierunku badania (posiew w kierunku bakterii tlenowych i beztlenowych) oraz prawidłowe postępowanie z materiałem po pobraniu.

Płyn może zostać dostarczony do laboratorium w jałowym pojemniku lub w butelkach systemu automatycznego do hodowli drobnoustrojów z krwi i jałowych płynów ustrojowych (zwłaszcza przy wysokim prawdopodobieństwie udziału w zakażeniu bakterii beztlenowych i braku pojemników do pobierania i przesyłania próbek w warunkach z ograniczonym dostępem tlenu).

Najczęstszą metodą pobierania płynu z jamy ciała na posiew jest jego aspiracja po nakłuciu jamy wypełnionej płynem z zachowaniem aseptyki:

- skórę w miejscu nakłucia odkażać przez zwilżenie gazikiem nasączonym środkiem do odkażania skóry stosowanym aktualnie w Szpitalu,
- wykonać nakłucie przestrzeni (jamy) wypełnionej płynem i aspirować płyn do strzykawki w ilości do 1 – 10 ml,
- pobrany materiał przenieść do sterylnego, szczelnie zamykanego pojemnika,
- próbkę po pobraniu przechowywać w temperaturze pokojowej i niezwłocznie przesłać do laboratorium,

- podczas wprowadzania płynów do butelek systemu automatycznego do hodowli drobnoustrojów z krwi i jałowych płynów ustrojowych należy postępować dokładnie w taki sam sposób jak w przypadku pobierania krwi na posiew przy pomocy igły i strzykawki (pkt. 2.6.2). Do każdej butelki wprowadzić 1 – 5 ml płynu i jak najszybciej dostarczyć do laboratorium.

2.10. Pobieranie materiałów śródoperacyjnych na badania mikrobiologiczne

W przebiegu zabiegów operacyjnych na badania mikrobiologiczne mogą być pobierane następujące materiały:

- płyny z jam ciała (patrz punkt 2.9),
- fragmenty tkanek, wyskrobiny z kości, biomateriały, np. siatki, dreny, protezy, implanty,
- treść ropna,
- wymazy.

Fragmenty pobranych tkanek oraz biomateriałów (optymalna objętość ok. 1-2 cm³) należy umieścić w jałowym pojemniku, a w przypadku ryzyka wyschnięcia (czas transportu >30 min., mała objętość próbki), zalać niewielką ilością jałowego roztworu soli fizjologicznej nieznacznie powyżej powierzchni materiału.

Treść ropną zaaspirować do strzykawki i przenieść do jałowego pojemnika. Jeżeli nie jest możliwa aspiracja za pomocą igły i strzykawki (np. mała ilość ropy), materiał pobrać jałową wymazówką. Do każdego kierunku badania (posiew tlenowy, beztlenowy, mykologiczny) dostarczyć oddzielną wymazówkę.

Materiał powinien zostać jak najszybciej dostarczony do laboratorium w temperaturze pokojowej.

We wszystkich powyższych rodzajach materiału należy uwzględnić możliwość zakażenia z udziałem **bakterii beztlenowych**, i co za tym idzie, zlecić właściwy kierunek badania i zabezpieczyć materiał przed dostępem tlenu. **Ropę** można transportować w strzykawce z założoną i zabezpieczoną igłą (nie zaginać). **Niewielkie fragmenty tkanek**, podobnie jak **wymazy** umieścić w podłożu transportowym. Możliwe jest również pobranie takiego rodzaju materiału bezpośrednio do podłoża namnażającego po wcześniejszym kontakcie z Laboratorium Mikrobiologicznym w celu uzyskania odpowiedniej pożywki.

2.11. Pobieranie materiału z zakażeń skóry i tkanek miękkich

Postępowanie w przypadku zakażeń skóry i tkanek miękkich zależy od ich ciężkości i umiejscowienia, a także obecności chorób współistniejących. Zakażenia te można podzielić na niepowikłane i powikłane (w tym z martwicą tkanek lub bez niej) oraz na ropne i nieropne. Wybór i sposób pobrania materiału klinicznego do mikrobiologicznej diagnostyki zakażeń skóry i tkanek miękkich zależy od lokalizacji, rozległości zakażenia, tempa narastania i intensywności objawów.

Wskazaniem do pobrania próbek z rany przewlekłej jest występowanie objawów klinicznych mogących sugerować zakażenie, takich jak:

- zaczerwienienie, obrzęk,
- nadmierne ocieplenie rany, tkliwość, ból,
- ropna wydzielina,

- zahamowanie procesu gojenia rany (brak postępów w gojeniu przez okres > 6 tygodni),
- ogólnoustrojowe objawy zakażenia, którego prawdopodobnym pierwotnym punktem wyjścia drobnoustrojów jest rana.

Rodzaj/ charakter zmian	Materiał/badanie	Instrukcja pobrania	Uwagi	Transport i przechowyw anie materiału
Podejrzenie zgorzeli gazowej	1. Biopłat lub wysięk (wymaz tylko gdy nie ma możliwości pobrania ww. materiału) na posiew + 2. Wymaz do wykonania preparatu bezpośredniego (wymazówka bez podłoża transportowego)	Standardowa procedura pobierania materiału	Pobrany materiał na posiew zabezpieczyć przed dostępem tlenu, na skierowaniu dopisać „podejrzenie zgorzeli gazowej” – krótszy niż standardowy dla bakterii beztlenowych czas inkubacji – szybsze otrzymanie wyniku.	Jak pkt. 2.10
Rana powierzchniowa, powierzchnowe zmiany ropne	Wymaz, ropa	Przetrzeć miejsce pobrania jałowym roztworem soli fizjologicznej, a okolicę preparatem alkoholowym do dezynfekcji skóry. Wymaz pobrać z głębszych warstw zmiany	Na skierowaniu umieścić informację o sposobie powstania rany (wypadek, uraz, skaleczenie, postrzał, ugryzienie przez zwierzę lub człowieka).	
Otwarte ogniska (ropień otwarty, przetoka, drenująca rana), rana chirurgiczna, zakażenie miejsca operowanego	Wymaz	Powierzchnię skóry zdezynfekować środkiem obowiązującym aktualnie w szpitalu i pozostawić do wyschnięcia. Materiał pobrać jałową wymazówką	Uwzględnić możliwość zakażenia z udziałem bakterii beztlenowych	
Ropnie zamknięte	Ropa, wymaz z ropy	Powierzchnię skóry zdezynfekować środkiem zalecanym aktualnie w szpitalu i pozostawić do wyschnięcia. Nakłuć lub otworzyć ropień, odrzuć pierwszą porcję ropy jałowym wacikiem, drugą zaaspirować do strzykawki (przy dużej ilości materiału), zabezpieczyć igłę osłonką. W przypadku małej ilości materiału pobrać wymaz.		
Rana oparzeniowa	Wymaz	Oparzoną powierzchnię skóry zdezynfekować obowiązującym		

		aktualnie w szpitalu i pozostawić do wyschnięcia. Materiał pobrać wymazówką z jak najgłębszej warstwy rany (najlepiej z jej podstawy). Materiał pobierać z kilku miejsc.		
Rana przewlekła (owrzodzenie, odleżyna)	Fragmenty tkanek pobierane chirurgicznie, biopłat Materiały o niższej wartości diagnostycznej: - materiał z łyżeczkowania rany - wymaz pobrany metodą Levine'a*	Oczyścić mechanicznie zmianę skórną z martwych tkanek jałową solą fizjologiczną i wysuszyć przy użyciu jałowej gazy. Pobrać wymaz z łoży rany z miejsca, które wygląda najbardziej zdrowo poprzez rolowanie wacika wymazówki na powierzchni 1 cm ² z uciskiem, tak aby uzyskać wypływ płynu tkankowego.	Wynik badania mikrobiologicznego nie decyduje o rozpoznaniu zakażenia, ale pozwala na ustalenie jego etiologii. Złotym standardem jest badanie ilościowe biopłatu zakażonej tkanki. Wymazy powierzchniowe nie mają wartości diagnostycznej, ponieważ nie pozwalają na różnicowanie między kolonizacją i zakażeniem, wyniki hodowli często są niezgodne z wynikami badania materiału pobranego drogą biopsji.	
Stopa cukrzycowa	- Fragmenty tkanki pobrane metodą biopsji oraz aspiracji treści płynnej z dna owrzodzenia - Materiał z łyżeczkowania głębokiego tkanki w trakcie oczyszczania Materiały o niższej wartości diagnostycznej: - wymaz z dna rany* -wymaz powierzchniowy z rany	*Oczyścić mechanicznie owrzodzenie z martwych tkanek jałową solą fizjologiczną i wysuszyć przy użyciu jałowej gazy. Wymaz z dna rany pobierać wymazówką wykonując ruch rotacyjny. Nie pobierać tkanki martwiczej!	Wynik badania mikrobiologicznego nie decyduje o rozpoznaniu zakażenia, ale pozwala na ustalenie jego etiologii. Wymaz z dna rany może skutecznie identyfikować florę patogenną, ma jednak zastosowanie jedynie w przypadku zakażeń powierzchownych, niedochodzących do kości. Wymazy powierzchniowe mają małą wartość diagnostyczną, ponieważ nie pozwalają na różnicowanie między kolonizacją i zakażeniem. Wynik posiewu nie powinien stanowić podstawy wyboru antybiotyku do terapii zakażenia stopy cukrzycowej.	
Tkanka objęta martwicą	Preferowanym materiałem diagnostycznym jest biopłat lub materiał uzyskany przez jałową aspirację zakażonej tkanki	Biopłat najlepiej pobrać z uniesionego brzegu rany, z dna ran powstałych w wyniku ugryzienia, a także po chirurgicznym oczyszczeniu ognisk zakażeń powodujących martwicę oraz w przypadku ran pourazowych	Na skierowaniu opisać lokalizację, charakter zmian chorobowych	

Tabela nr 4 Pobieranie materiałów ze skóry i tkanek miękkich na badanie mikrobiologiczne

2.12. Pobieranie materiału z narządu wzroku

Przygotowanie pacjenta

Materiał diagnostyczny należy pobierać rano, bez przemywania i zakraplania oczu. Jeśli istnieje konieczność pobrania wymazu z oka o innej porze dnia, należy maksymalnie wydłużyć czas od ostatniego zakraplania lub przemywania oka (co najmniej 4 godziny).

Pobieranie materiału z worka spojówkowego

- Materiał pobierać wymazówką z małym wacikiem i drucianym trzonkiem, w kierunku od zewnętrznego do wewnętrznego kąca oka i po pobraniu umieścić w probówce z podłożem transportowym.
- W przypadku braku wydzieliny można pobrać materiał ze spojówek przez umieszczenie w worku spojówkowym jałowych jedwabnych nici (ok. 1 cm), które po pobraniu umieszcza się w sposób aseptyczny w sterylnej probówce lub bezpośrednio w podłożu namnażającym (konieczny wcześniejszy kontakt z laboratorium w celu otrzymania próbki z podłożem).
- W przypadku uzyskania wyników trudnych do interpretacji (wyhodowanie składników mikroflory skóry) pomocne jest pobranie wymazu i wykonanie posiewu z worka spojówkowego zdrowego oka w celach porównawczych.

Pobieranie próbek z gałki ocznej

Materiał do badania z rogówki i gałki ocznej pobiera wyłącznie lekarz!

W celu uzyskania materiału z rogówki lub spojówki gałkowej stosuje się (po znieczuleniu) zeszkrobki jałową, platynową szpatułką lub eż.

Zaleca się, aby zeszkrobki posiać na ogrzane do temperatury pokojowej odpowiednie podłoża mikrobiologiczne bezpośrednio po pobraniu (konieczny wcześniejszy kontakt z laboratorium!).

2.13. Pobieranie materiału z dolnych dróg oddechowych

Materiał	Przygotowanie pacjenta	Instrukcja pobrania	Warunki transportu i przechowywania
Plwocina	• Materiał pobrać w godzinach porannych (najlepiej po przerwie nocnej), na czczo lub co najmniej 4 godziny po ostatnim posiłku. • Usunąć protezy zębowe, nakładki nazębne, ruchomy aparat ortodontyczny, a następnie dokładnie przepłukać jamę ustną i gardło jałową lub przegotowaną wodą. • W przypadku trudności z odkrztuszaniem można wcześniej zastosować lek mukolityczny (1-2 dni przed pobraniem), oklepywanie, drenaż ułożeniowy. • U pacjentów z mukowiscydozą pobierać	Wziąć głęboki wdech i poprzez głębokie kasznięcie odkrztusić materiał bezpośrednio do jałowego pojemnika z szerokim wlotem, w ilości 1-5 ml. Uwaga! Należy zwrócić uwagę, aby pozyskany materiał pochodził z dolnych dróg oddechowych, nie był zanieczyszczony śliną. Pojemnik po pobraniu szczelnie zamknąć. Formularz „Pobieranie plwociny na posiew – informacja dla pacjenta” stanowi załącznik nr 1 do niniejszego Dodatku.	Materiał dostarczyć do laboratorium w czasie do dwóch godzin od pobrania (temp. pok.). Przechowywanie i/lub transport > 2 godz. (maksymalnie 24) w temperaturze 4-8°C.

	plwocinę indukowaną, po wcześniejszym zastosowaniu inhalacji hipertonicznym roztworem soli fizjologicznej.		
Popłuczyny pęcherzykowo-oskrzelikowe (BAL)	- Nie spożywać posiłków co najmniej 4, a czystych płynów 2 godz. przed bronchoskopią, - Konieczne założenie dostępu do żyły w celu podawania leków uspokajających, nasennych, przeciwkaszlowych i przeciwbólowych, - U chorego na astmę można podać lek rozszerzający oskrzela, - Gardło oraz przewody nosowe znieczulić się roztworem lidokainy, - Pierwszy posiłek można zjeść co najmniej 2 godz. po ustąpieniu działania znieczulenia miejscowego,	Materiał pobrać za pomocą bronchofiberoskopu. Do oskrzela podać w co najmniej trzech porcjach łącznie 100-150ml jałowej soli fizjologicznej/płynu Ringera, a następnie zaaspirować popłuczyny oskrzelowo-pęcherzykowe (BAL) do sterylnego pojemnika. W ten sposób pobiera się materiał z około jednego miliona pęcherzyków płucnych. Prawidłowy odzysk popłuczyn pęcherzykowo-oskrzelowych to około 40% użytego do płukania płynu. Mini-BAL – BAL pobierany po podaniu do oskrzela 50-70ml jałowego soli fizjologicznej/płynu Ringera.	Materiał dostarczyć do laboratorium w czasie do dwóch godzin od pobrania (temp. pok.). Przechowywanie i/lub transport > 2 godz. (maksymalnie 72) w temperaturze 4-8°C.
Bronchoaspirat	j.w.	Materiał pobrać do jałowego pojemnika lub strzykawki aspiracyjnej.	
Materiał pobrany drogą biopsji szczoteczkowej (zabezpieczony wymaz szczoteczkowy, PSB)	j.w.	Materiał z oskrzela pobrać szczoteczką zabezpieczoną sterylnym korkiem z polietylenu glikolu, umieszczoną w kanale bronchofiberoskopu lub specjalnego cewnika o podwójnym świetle. Szczoteczkę wprowadzić do wybranego oskrzela bez użycia ssania, następnie wewnętrzny cewnik ze szczoteczką wysunąć na zewnątrz, wypychając korek, po czym energicznie pobrać wymaz z określonego miejsca. Pobrany materiał w objętości 0,001-0,01 ml niezwłocznie wprowadzić do 1 ml jałowego płynu Ringera.	Materiał dostarczyć do laboratorium w czasie do dwóch godzin od pobrania (temp. pok.). Materiał nie nadaje się do przechowywania.
Wydzielina z drzewa oskrzelowego, aspirat tchawiczy	Wydzielina oskrzelowa pobierana jest od pacjentów zaintubowanych.	Wprowadzić jałowy cewnik do odsysania (nie dotykając jego końca) do rurki intubacyjnej, Zaaspirować wydzielinę do cewnika, całkowicie jej nie odsysając lub odessać wydzielinę w objętości około 1 ml po podaniu przez cewnik 5-20 ml jałowej soli fizjologicznej. Odciać w sposób aseptyczny końcówkę cewnika 2-3 cm i umieścić w jałowym pojemniku/probówce.	j.w.

Tabela nr 5 Pobieranie materiałów z dolnych dróg oddechowych na badanie mikrobiologiczne

2.14. Pobieranie materiałów na posiew z górnych dróg oddechowych

Wszystkie materiały, z wyjątkiem wymazu z gardła i nosa, powinien pobierać lekarz laryngolog. Od chorych na **mukowiscydozę** pobierane są tzw. **głębokie wymazy z gardła** w celu wykrycia kolonizacji/przewlekłego zakażenia patogenami typowymi dla tej choroby. Z uwagi na odrębny tok diagnostyczny, w przypadku tej grupy pacjentów należy pamiętać o wybraniu właściwego badania w systemie AMMS (**GDOMUKO** do materiałów z górnych i **DDOMUKO** – z dolnych dróg oddechowych).

Material	Przygotowanie pacjenta	Potrzebne materiały	Instrukcja pobrania
Wymaz z gardła i/lub migdałków, nosogardzieli	• na czczo, • przed myciem zębów, • przed pobraniem przepłukać jamę ustną przegotowaną wodą (nie używać żadnych środków antyseptycznych)	rękawiczki jednorazowe sterylna pałeczka wymazowa z probówką transportową, bez lub z podłożem transportowym szpatułka laryngologiczna	Przed pobraniem głowę pacjenta delikatnie odchylić do tyłu. Poprosić pacjenta o szerokie otwarcie ust. Przytrzymać szpatułką język w celu uwidocznienia miejsca pobrania materiału. Zdecydowanym, kolistym uciskającym ruchem pobrać wymazówką materiał ze zmienionych chorobowo miejsc (z powierzchni migdałków i łuków podniebiennych, czopów ropy, nalotów lub pokrytych wydzieliną okolic tylnej ściany gardła). Nie dotykać błon śluzowych policzków, języka lub języczka podniebiennego, aby nie zanieczyścić wymazówki śliną!
Wymaz z nosogardzieli		jw. Używać wymazówki z odpowiednio giętym aplikatorem	Wacik na odpowiednio wygiętym aplikatorze wprowadzić delikatnie za języczkiem podniebiennym ku górze lub przez otwór nosowy ku tyłowi, aż dotknie tylnej ściany jamy nosowo-gardłowej. Wykonać ruchy wacika ku dołowi i ku górze w celu wymazania tylnej ściany gardła.
Wydzielina z krtani		jw. + wziernik krtaniowy	Wprowadzić (przy użyciu wziernika) wacik do przestrzeni międzywęzłowej, gdzie przez dotknięcie ścian krtani wywołany zostaje odruch kaszlu i wyrzucenie wydzieliny na wacik.
Wymaz z nosa	• możliwe pobranie o każdej porze dnia przed wydmuchnięciem nosa, • 2-3 godz. przed badaniem nie stosować preparatów antybakteryjnych (krople, maści, kremy itp.)	rękawiczki jednorazowe, sterylna pałeczka wymazowa z probówką transportową bez lub z podłożem transportowym, ampułka z jałową solą fizjologiczną	Zwilżyć aplikator wymazówki jałowym roztworem soli fizjologicznej. Odchylić głowę pacjenta do tyłu i przytrzymać za podbródek. Umieścić delikatnie aplikator wymazówki w jamie nozdrzy przednich do momentu wyczucia oporu. Po dociśnięciu skrzydełka nosa, delikatnie obrócić wymazówkę 4-5 razy. Tą samą czynność

			wykonać w drugiej dziurce nozdrzy przednich. Przy podejrzeniu ozeny (cuchnący nieżyt nosa) strupy zebrać za pomocą pęsety lub wacika zwilżonego solą fizjologiczną.
Wymaz z ucha zewnętrznego	Przed pobraniem materiału skórę ucha oczyścić sterylnym gazikiem nasączonym płynem do dezynfekcji skóry i odczekać do wyschnięcia.		Jałową wymazówką, osobną dla każdego ucha (jeśli jest tak potrzeba), zwilżoną solą fizjologiczną pobrać materiał z przewodu słuchowego zewnętrznego uważając, aby nie zanieczyścić wacika przez dotknięcie skóry. U pacjentów z podejrzeniem zakażenia grzybiczego należy pobrać łuski skórne widoczne w przewodzie słuchowym, używając do tego jałowej szpatułki i jałowej próbówki.
Wymaz z ucha wewnętrznego Aspirat wysięku z ucha środkowego po nacięciu lub wydzielina po samoistnej perforacji błony bębenkowej Wydzielina z drenu jamy bębenkowej		rękawiczki jednorazowe, sterylna pałeczka wymazowa z próbówką transportową bez lub z podłożem transportowym, ampułka z jałową solą fizjologiczną wziernik uszny laryngologiczny	Jałową wymazówką, osobną dla każdego ucha (jeśli jest tak potrzeba), zwilżoną solą fizjologiczną pobrać treść ropną. Aspirat po nakłuciu błony bębenkowej przenieść do jałowego pojemnika.
Aspirat z zatok (rutynowe wykonanie badania mikrobiologicznego nie jest zalecane)	Przed nakłuciem zatoki zdezynfekować błonę śluzową ściany nosowej	rękawiczki jednorazowe, strzykawka aspiracyjna jałowy pojemnik/probówka, sterylna pałeczka z podłożem transportowym, ampułka z jałową solą fizjologiczną	Płyn z zatoki zaaspirować do strzykawki, zmienić igłę i przenieść aseptycznie do jałowej próbówki lub na podłoże transportowe.

Tabela nr 6 Pobieranie materiałów z górnych dróg oddechowych na badanie mikrobiologiczne

2.14.1. Pobieranie wymazu z gardła w kierunku anginy Plaut-Vincenta

Materiał pobrać z miejsc zmienionych chorobowo sterylną wymazówką zwilżoną jałowym roztworem soli fizjologicznej w celu wykonania preparatu bezpośredniego barwionego metodą Grama (w tym przypadku diagnoza oparta jest o wynik mikroskopii, nie wykonuje się posiewu). Nie używać wymazówki z podłożem transportowym!

2.15. Pobieranie moczu na posiew

Ilościowy posiew moczu jest złotym standardem w mikrobiologicznej diagnostyce ZUM. Badanie pozwala na ustalenie czynnika etiologicznego zakażenia oraz na określenie jego miana oraz lekowrażliwości (wykonanie antybiogramu). Nie zaleca się rutynowego wykonywania posiewów kontrolnych moczu po leczeniu ZUM.

Technika pobrania moczu na posiew uzależniona jest od kierunku badania (spodziewanej etiologii ZUM), wieku oraz stanu pacjenta (możliwość pobrania metodą fizjologiczną lub konieczność stosowania innych technik).

U dorosłych i starszych dzieci mocz najlepiej pobierać rano, po nocnym spoczynku lub z zachowaniem co najmniej czterogodzinnej przerwy od ostatniej mikcji. U małych dzieci pora pobierania może być dowolna – ważniejsze jest zachowanie jałowych warunków pobrania.

Mocz pobiera się do jałowego pojemnika w ilości niezbędnej do napełnienia próbówki ze stabilizatorem. Tak zabezpieczoną próbkę moczu można przechowywać i/lub transportować w temperaturze pokojowej, zapewniając wiarygodne wyniki badań mikrobiologicznych przez okres 24 godzin po pobraniu. Materiał pobrany do jałowego pojemnika powinien być jak najszybciej dostarczony do laboratorium (czas między pobraniem, a wykonaniem posiewu nie powinien być dłuższy niż 2 godz.) lub schłodzony, transportowany i/lub przechowywany w temperaturze 4°C (maksymalnie do 24 godz.)

Z uwagi na wysokie **ryzyko uzyskania wyniku niewiarygodnego**, posiew moczu **nie zostanie wykonany** w przypadku dostarczenia następujących próbek:

- moczu pobranego ponad dwie godziny przed dostarczeniem do laboratorium, bez schłodzenia lub konserwacji (do jałowego pojemnika bez konserwantu),
- moczu pobranego do niejałowego pojemnika,
- moczu z dobowej zbiórki,
- moczu pobranego z worka do zbiórki moczu u pacjenta cewnikowanego,
- moczu dostarczonego w nieszczelnym, przeciekającym, uszkodzonym pojemniku,
- moczu bez informacji o czasie i sposobie pobrania.

Należy pamiętać o wyborze właściwego badania w HIS, uwzględniającego rodzaj materiału, obecność cewnika moczowego, nefrostomi, przetok itp. oraz technikę pobrania moczu. Ma to kluczowe znaczenie w podejmowaniu decyzji diagnostycznych i interpretacji wyniku posiewu.

2.15.1. Nakłucie nadłonowe pęcherza moczowego

Nakłucie nadłonowe pęcherza jest metodą pobierania moczu obarczoną najmniejszym ryzykiem zanieczyszczenia próbki. Jest metodą z wyboru w przypadku zlepienia warg sromowych i stulejki oraz przy podejrzeniu ZUM wywołwanego przez bakterie beztlenowe. W celu prawidłowego wykonania nakłucia pęcherz musi być wypełniony moczem. Przed pobraniem skórę należy przygotować w sposób, w jaki przygotowuje się pole operacyjne. Pęcherz jest nakłuwany powyżej spojenia łonowego za pomocą igły i strzykawki. Doświadczonemu lekarzowi wystarcza jedynie palpacyjne badanie pęcherza, ale w celu uniknięcia powikłań zabieg powinien być wykonywany pod kontrolą USG.

2.15.2. Diagnostyczne cewnikowanie pęcherza moczowego

Cewnikowanie pęcherza moczowego jest metodą preferowaną:

- u dzieci i pacjentów dorosłych, którzy nie są w stanie samodzielnie pobrać prawidłowo próbki moczu (np. pacjenci z zaburzeniami świadomości) lub nie są w stanie oddać moczu z powodu zaburzeń urologicznych i neurologicznych,
- jeżeli wyniki posiewu moczu pobranego drogą fizjologiczną ze środkowego strumienia są niejednoznaczne, a ustalenie rozpoznania jest ważne dla dalszego postępowania diagnostycznego i terapeutycznego.

W związku z ryzykiem jatrogennego zakażenia związanego z cewnikowaniem pęcherza moczowego nie należy wykonywać tego zabiegu u kobiet ciężarnych.

Przed wprowadzeniem cewnika do pęcherza moczowego, ujście cewki moczowej i jej okolice należy przemyć dokładnie wodą i mydłem, a następnie preparatem antyseptycznym. Po wprowadzeniu cewnika do pęcherza moczowego, pierwszych kilka mililitrów moczu trzeba odrzucić w celu zmniejszenia ryzyka kontaminacji próbki drobnoustrojami kolonizującymi cewkę moczową i uzyskania wyniku fałszywie dodatniego.

2.15.3. Pobieranie moczu od pacjentów cewnikowanych w sposób ciągły

Diagnostyka mikrobiologiczna ZUM u pacjentów cewnikowanych może być trudna z uwagi na wysokie ryzyko uzyskania wyniku niewiarygodnego, u osób z długo utrzymywanym cewnikiem (posiew moczu pobranego przez cewnik, na którym utworzył się biofilm może nie odzwierciedlać etiologii bakteryjnej w pęcherzu moczowym). Jeżeli jest to możliwe, próbkę moczu należy pobrać **bezpośrednio po wymianie cewnika**. W innych przypadkach mocz pobiera się z zachowaniem zasad aseptyki przez specjalny port, którego membrana powinna być zdezynfekowana przed nakłuciem. Nie należy rozłączać worka i cewnika oraz **nie pobierać moczu z worka**. Przed pobraniem moczu, cewnik należy na krótki okres zaklipsować w celu uzyskania próbki moczu.

Z uwagi na odrębny tok diagnostyczny i kryteria interpretacji wyników posiewu, w przypadku tej grupy pacjentów należy pamiętać o wybraniu właściwego badania w systemie AMMS (**MOCZ2** - Posiew moczu od pacjenta cewnikowanego w sposób ciągły (świeżo założony cewnik)).

2.15.4. Pobieranie moczu ze środkowego strumienia

Z uwagi na wysokie ryzyko kontaminacji próbki moczu pobranego przez pacjenta ze środkowego strumienia florą cewki moczowej i jej okolicy (7-31%), kluczową rolę odgrywa właściwa edukacja pacjenta. Formularz „Pobieranie moczu ze środkowego strumienia na badania mikrobiologiczne – informacja dla pacjenta” stanowi załącznik nr 2 do niniejszego Dodatku.

Prawidłowa higiena krocza przed pobraniem próbki moczu **u kobiet** powinna obejmować dokładne umycie okolic cewki moczowej i krocza wodą i mydłem, wytarcie w kierunku od przodu do tyłu i przemycie gazikiem nasączonym wodą. Po rozchyleniu warg sromowych, pierwszą porcję moczu należy oddać do toalety, w celu wypłukania drobnoustrojów z cewki moczowej. Następnie, bez przerywania strumienia, należy pobrać środkową porcję moczu do jałowego pojemnika. Młode kobiety z objawami ZUM diagnozowane ambulatoryjnie mogą stosować technikę pobrania moczu bez uprzedniej toalety, ale ze

środkowego strumienia i po rozchyleniu warg sromowych. Dopuszczalne jest pobranie środkowego strumienia moczu u kobiet ciężarnych bez toalety.

U **mężczyzn** próbka może być pobrana po przemyciu ujścia cewki moczowej jedynie przy pomocy gazików nasączonych wodą. Należy zwrócić uwagę na odprowadzenie napletka, w celu zmniejszenia ryzyka kontaminacji. Następnie, podobnie jak u kobiet, pierwszą porcję moczu należy oddać do toalety i bez przerywania strumienia środkową porcję moczu pobrać do jałowego pojemnika.

U **pacjentów starszych** wymagających opieki, mocz na posiew należy pobierać po dokładnej toalecie ujścia cewki moczowej przy pomocy osób drugih.

W pobieraniu moczu u **noworodków, niemowląt i dzieci z niekontrolowanym oddawaniem moczu** powinny wziąć udział dwie osoby. Aby sprowokować dziecko do oddania moczu należy je wcześniej napoić, a procedurę pobierania rozpocząć po ok. 30 min. Dziecko rozebrać i dokładnie umyć wodą z mydłem z uwzględnieniem fałd skórnych okolicy pachwin i narządów płciowych:

- u dziewczynek rozchylić delikatnie wargi sromowe i ruchem od przodu do tyłu umyć okolice sromu i odbytu,
- u chłopców umyć okolice cewki moczowej po bardzo delikatnym zsunięciu napletka.

Okolicę cewki moczowej osuszyć jałowymi gazikami. Jeżeli dziecko nie stoi samodzielnie, jedna z osób unosi je podtrzymując pod pachami, tak aby nogi były swobodne. Druga osoba bardzo delikatnie opukuje dwoma palcami (wskazujący i środkowy) okolicę nadłonową przez około pół minuty, a następnie przez około pół minuty wykonuje okrężnymi ruchami masaż okolicy lędźwiowej. Czynności stymulacyjne powtarzać, aż do momentu, kiedy dziecko zacznie oddawać mocz. Podstawić kubeczek starając się nie dotykać skóry dziecka. Pobrać próbkę w objętości 2-10 ml.

2.16. Pobieranie materiału z dróg moczowo-płciowych

2.16.1. Wymaz z pochwy

Materiał pobrać po zachowaniu co najmniej jednodniowej abstynencji seksualnej i dwudniowej przerwie w stosowaniu dopochwowych preparatów leczniczych.

Materiał pobrać z widocznych zmian oraz nalotów za pomocą jałowej wymazówki zwilżonej solą fizjologiczną. W przypadku pobierania materiału z kanału szyjki macicy należy uprzednio usunąć jałowym wacikiem wydzielinę i czop śluzowy z jej ujścia.

W zależności od przewidywanego czasu dostarczenia do Laboratorium wykorzystuje się wymazówkę bez (do dwóch godz.) lub z podłożem transportowym (do 48 godz.).

2.16.2. Wymaz z cewki moczowej/kanału szyjki macicy

Materiał należy pobrać przed poranną mikcją lub co najmniej trzy godziny po oddaniu moczu.

- Oczyszczyć ujście cewki moczowej sterylnym gazikiem zwilżonym jałową solą fizjologiczną.
- Osuszyć ujście cewki moczowej sterylnym i suchym gazikiem.
- W przypadku mężczyzn: ucisnąć ku przodowi cewkę moczową, ostrożnie wycisnąć wydzielinę, a następnie pobrać materiał za pomocą jałowej wymazówki.

- W przypadku kobiet: ucisnąć cewkę moczową palcami przez ściankę przedsionka pochwy w kierunku ujścia zewnętrznego, a następnie pobrać materiał za pomocą jałowej wymazówki.
 - W przypadku braku wydzieliny należy wprowadzić do światła cewki moczowej (na głębokość co najmniej 2 cm) cienką wymazówkę, a następnie pobrać materiał poprzez jej obracanie przez ok. 10 s.
- W zależności od przewidywanego czasu dostarczenia do Laboratorium wykorzystuje się wymazówkę bez (do dwóch godz.) lub z podłożem transportowym (do 48 godz.).

2.16.3. Nasienie

Przed pobraniem materiału oddać mocz do toalety i dokładne umyć wodą i mydłem okolice cewki moczowej i żołądzi prącia (po odciągnięciu napletka). Materiał pobrać drogą masturbacji do sterylnej pojemnika. Jeżeli lekarz zlecił wykonanie posiewu w kierunku bakterii beztlenowych należy pobrać materiał do jałowej strzykawki i po usunięciu nadmiaru powietrza, zabezpieczyć wylot jałową igłą z nasadką. Materiał nie nadaje się do przechowywania, dlatego próbkę należy dostarczyć do Laboratorium jak najszybciej po pobraniu (do dwóch godz.) lub zabezpieczyć na wymazówce z podłożem transportowym (brak możliwości wykonania posiewu ilościowego). Formularz „Pobieranie nasienia na badania mikrobiologiczne – informacja dla pacjenta” stanowi załącznik nr 3 do niniejszego Dodatku.

2.17. Pobieranie materiału w kierunku diagnostyki zakażeń jelitowych

Materiałem o największej wartości diagnostycznej w zakażeniach dolnego odcinka przewodu pokarmowego oraz przy podejrzeniu inwazji pasożytniczej jest kał.

2.17.1. Kał na posiew

Prawdopodobieństwo wykrycia czynnika etiologicznego zwiększa pobieranie 2-3 próbek materiału w ciągu kolejnych dni.

Przed pobraniem kału należy całkowicie opróżnić pęcherz moczowy. Oddać kał na kawałek jednorazowego ręcznika papierowego lub na wkładkę do sedesu. Kał nie powinien mieć kontaktu z moczem i nie należy pobierać go bezpośrednio z muszli klozetowej. W przypadku płynnego stolca oddać kał bezpośrednio do jałowego pojemnika. Przy pomocy łopatkę dołączonej do pojemnika, pobrać kilka próbek. Łączna objętość próbki powinna odpowiadać wielkości orzecha laskowego. W przypadku płynnego stolca pobrać co najmniej 1 ml materiału.

Formularz „Pobieranie kału na badania mikrobiologiczne – informacja dla pacjenta” stanowi załącznik nr 4 do niniejszego Dodatku.

2.17.2. Kał na badanie parazytologiczne

Kał należy pobrać przed rozpoczęciem leczenia. W przypadku wcześniejszego stosowania antybiotyków lub leków przeciwpasożytniczych, materiał pobrać po upływie co najmniej dwóch tygodni od

zakończenia terapii, a w przypadku radiologicznych środków kontrastowych – po upływie 48 godz. od zakończenia stosowania tych środków.

Kał powinien być oddany do czystych i suchych, papierowych naczyń woskowanych lub wykonanych z tworzywa sztucznego względnie na czysty papier i następnie przeniesiony do pojemnika z łopatką lub próbki zestawu do pobierania kału na badanie parazytologiczne. Próbką nie może być zanieczyszczona moczem, wodą lub glebą. Do pojemnika należy przenieść materiał z trzech różnych miejsc. Pojemnik wypełnić maksymalnie do połowy jego pojemności.

Dla celów diagnostycznych zaleca się przynajmniej trzykrotne pobranie i badanie kału w odstępach 2–3-dniowych, co zwiększa prawdopodobieństwo wykrycia form rozwojowych pasożytów, zwłaszcza cyst pierwotniaków, które wydalone są nieregularnie.

Próbki należy dostarczyć do laboratorium w ciągu 24 godz. od pobrania. Uformowany kał w kierunku cyst/oocyst pierwotniaków lub jaj helminatów można badać do 72 godz. od pobrania. Do tego czasu próbki powinny być przechowywane w temperaturze 4–10°C. Kał biegunkowy wodnisty, należy zbadać w ciągu 60 minut od pobrania ze względu na możliwą obecność trofozoitów pierwotniaków, które tracą zdolność ruchu (będącą cechą diagnostyczną) lub ulec degradacji.

Formularz „Pobieranie kału na badania mikrobiologiczne – informacja dla pacjenta” stanowi załącznik nr 4 do niniejszego Dodatku.

2.18. Pobieranie materiału na badania przesiewowe w kierunku nosicielstwa/kolonizacji

Materiał diagnostyczny w kierunku nosicielstwa/kolonizacji pobiera się za pomocą jałowej wymazówki zwilżonej roztworem soli fizjologicznej. W zależności od przewidywanego czasu dostarczenia do Laboratorium wykorzystuje się wymazówkę bez (do dwóch godzin) lub z podłożem transportowym (do 48 godzin).

Wymaz z przedsionka nosa:

Materiał z obu dziurek nosa pobiera się jedną wymazówką. Aplikator wymazówki należy umieścić delikatnie w jamie nozdrzy przednich do wyczucia oporu i po docięnięciu skrzydełka nosa, obrócić kilkakrotnie.

Wymaz z odbytu:

Po rozchyleniu pośladków umieścić delikatnie aplikator wymazówki na głębokość ok. 4 cm (u małych dzieci ok. 1 cm) poza zwieracz odbytu i kilkakrotnie obrócić, tak aby na wymazówce znalazły się fragmenty złuszczonego nabłonka jelita grubego. Na aplikatorze wymazówki musi być widoczny ślad pobranego materiału (kał, śluz, krew).

2.19. Pobieranie materiału post mortem

Wiarygodne wyniki z materiałów pobranych *post mortem* można uzyskać wówczas, gdy próbki są pozyskane w ciągu maksymalnie 5 godzin od zgonu. Należy pobierać materiały z co najmniej dwóch różnych tkanek/narządów.

- Krew – pobrać z komór serca w optymalnej ilości po 10 ml i rozdzielić równo pomiędzy podłoże do hodowli bakterii tlenowych i beztlenowych. Pobieranie próbek powinno odbywać się bez ucisku na żyłę główną lub na organy jamy brzusznej, aby nie spowodować zanieczyszczenia próbki florą jelitową.
- Próbki tkanek o wymiarach 2 x 2 x 0,5 cm umieścić w jałowym zakręcanym pojemniku.
- W przypadku podejrzenia bakteriemii lub posocznicy należy pobrać próbki krwi i śledziony, gdyż porównanie wyników hodowli obu próbek może być pomocne przy ustaleniu czynnika etiologicznego zakażenia; jeśli nie ma możliwości uzyskania próbki krwi należy przesłać fragment śledziony. Oprócz tego zaleca się pobieranie wycinków również z innych miejsc jak: płuca, wątroba czy nerki.
- W przypadku ropni ich zawartość pobrać strzykawką do jałowego pojemnika wraz z pobranym fragmentem ściany ropnia.

2.20. Pobieranie materiału na badania czystości mikrobiologicznej środowiska

2.20.1. Badanie czystości mikrobiologicznej powierzchni

2.20.1.1. Metoda pośrednia, jakościowa (metoda wymazów)

Do metod pośrednich należy pobieranie wymazów z powierzchni za pomocą wymazówek, gąbek, jałowych gazików zwilżonych roztworem soli fizjologicznej. Wybór sposobu pobierania wymazu zależy od rodzaju badanej powierzchni. Próbki pobrane zwilżoną wymazówką należy dostarczyć jak najszybciej do laboratorium lub posiać do podłoża bulionowego bezpośrednio po pobraniu. Gazik umieścić w jałowym pojemniku (np. do pobierania moczu), a gąbkę, po odłączeniu aplikatora – w woreczku dołączonym do zestawu i dostarczyć do laboratorium.

2.20.1.2. Metoda bezpośrednia, półilościowa (metoda odcisków)

Metoda zalecana do badania powierzchni płaskich o niskim stopniu skażenia. Wykorzystuje się płytki kontaktowe o określonym polu powierzchni przylegania do badanej powierzchni.

Sposób postępowania:

- otworzyć płytkę odciskową nie dotykając palcami podłoża agarowego,
- podłoże lekko docisnąć do badanej powierzchni przez ok. 10 sekund bez przesuwania płytki po powierzchni),
- po pobraniu odcisku płytkę zamknąć i opisać (data, identyfikacja miejsca badanego i itp.).

2.20.2. Badanie czystości mikrobiologicznej powietrza

2.20.2.1. Metoda sedymentacji

Głównym czynnikiem mającym wpływ na wynik badania jest ruch powietrza, dlatego należy zwrócić szczególną uwagę na szczelność okien, wyłączenie klimatyzacji na okres wykonania badań oraz ograniczenie ruchu personelu/pacjentów. Do badania użyć:

- Columbia Agar z 5% krwią baranią do określenia ogólnej liczby drobnoustrojów,
- Sabouraud Agar z chloramfenikolem i gentamycyną do określenia liczby pleśni i drożdży.

Rutynowo, badanie czystości powietrza należy wykonywać na podłożu z krwią. Badanie w kierunku potencjalnego zanieczyszczenia grzybami wykonywać w przypadkach, gdy w pionie budynku wykonywane są gruntowe prace remontowe.

Sposób postępowania:

Otwarte płytki z podłożem wzrostowym ustawić w badanym pomieszczeniu w kilku miejscach (w zależności od wielkości pomieszczenia, minimum 3) i pozostawić na 30 minut. Po zakończeniu ekspozycji płytki zamknąć, opisać (data, identyfikacja miejsca badanego) i dostarczyć do laboratorium.

3. Przyjęcie materiału do badań

Materiał kliniczny na badania mikrobiologiczne od pacjentów Szpitala przyjmowany jest codziennie przez całą dobę, a do badań oceny czystości mikrobiologicznej środowiska, badania parazytologiczne i od pacjentów Poradni i prywatnych – od poniedziałku do piątku w godzinach 7.30 – 15.00.

Materiał wraz dokumentacją (skierowanie) dostarczany jest za pośrednictwem poczty pneumatycznej lub drogą tradycyjną. Dostarczenie próbek do punktu przyjęcia materiału, w przypadku drogi konwencjonalnej, musi zostać potwierdzone przez pracownika ZDL po weryfikacji:

- poprawności przypisanego numeru laboratoryjnego,
- zgodności pobranego materiału (rodzaj i ilość) z informacją zawartą na zleceniu na badania,
- jakości próbek (ocena jakości próbek) pod kątem przydatności do badań (właściwa objętość, właściwy sposób zabezpieczenia materiału).

Kryteria odrzucenia próbki dla poszczególnych rodzajów materiału diagnostycznego wymienione są w tabeli nr 7.

Materiał	Kryteria odrzucenia
Brak możliwości identyfikacji próbki	Brak kodu kreskowego, skierowania na badanie mikrobiologiczne, nieopisana próbka
Niezgodność identyfikacji próbki ze skierowaniem	Konieczne wyjaśnienie telefoniczne ze zleceniodawcą
Ogólne (dotyczące wszystkich materiałów)	Materiał nieadekwatny do zleconego badania Niejałowy, uszkodzony, nieuszczelny pojemnik na materiał Materiał rozlany Niewłaściwa temperatura transportu Przekroczony czas transportu Dostarczenie materiału w podłożu transportowym, transportowo-wzrostowym z przekroczonym terminem przydatności do użycia
Mocz	Pobrano > 2 godz. przed dostarczeniem do laboratorium, bez schłodzenia lub konserwacji Mocz z dobowej zbiórki lub z worka do zbiórki moczu u pacjenta cewnikowanego Brak informacji o czasie i sposobie pobrania
Kał	Kał uformowany, niespełniający kryteriów luźnego, biegunkowego stolca w
Krew	Dostarczona w probówce (nie wprowadzona do butelki z podłożem hodowlanym) Przechowywanie w cieplarni lub lodówce butelki z wprowadzonym materiałem przed dostarczeniem do laboratorium
Materiał w kierunku beztlenowców	Materiał nieprawidłowo zabezpieczony przed dostępem tlenu Materiał nieadekwatny: wymaz z gardła, nosogardzieli, jamy ustnej z wyjątkiem kieszonek zębowych, odkrztuszona płwocina, wydzielina z dróg oddechowych odessana drogą nosowo-tchawiczą

	lub ustno-tchawiczą, treść jelita grubego (z wyjątkami), wymaz z odbytu, mocz pobrany inaczej niż przez nakłucie nadłonowe, wymaz z cewki moczowej, wymaz z powierzchownych ran, odleżyn, ujścia przetok)
Plwocina	Próbki z widocznymi fragmentami żywności lub innymi cząstkami stałymi

Tabela nr 7 Zestawienie kryteriów odrzucenia próbek na badanie mikrobiologiczne

W szczególnych przypadkach (materiał trudny do uzyskania, pozyskany w trakcie zabiegu operacyjnego, niemożliwe ponowne pobranie) materiał może zostać przyjęty do badania po uzgodnieniu ze Zleceniodawcą.

Próbki spełniające wymagania są przyjmowane w LSI i przekazywane do Laboratorium Mikrobiologicznego.

4. Przygotowanie materiału do badań

W godzinach pracy Laboratorium Mikrobiologicznego próbki (jeżeli procedura badawcza tego wymaga) są przygotowywane do badania i/lub zabezpieczane przez jego personel. W pozostałym czasie obowiązek zabezpieczenia materiału spoczywa na pracownikach ZDL.

5. Dokumentowanie niezgodności na etapie przedanalizy

Niezgodności stwierdzone na etapie przedanalizy są dokumentowane w LSI poprzez wprowadzenie odpowiedniego komentarza.

W przypadku odrzucenia próbki personel Laboratorium zobowiązany jest do niezwłocznego poinformowania Zleceniodawcy o odstąpieniu od wykonania badań, podając przyczyny odrzucenia oraz o ewentualnej konieczności ponownego pobrania materiału.

Jeżeli badanie zostanie wykonane z próbki niespełniającej wymagań (szczególne sytuacje opisane w punkcie 3.) fakt ten zostanie odnotowany na wyniku badania.

6. Badania zlecone w trybie pilnym

Badania mikrobiologiczne wykonywane są w trybie rutynowym, z wyjątkiem szybkich testów immunochromatograficznych w kierunku antygenów drobnoustrojów chorobotwórczych oraz testów wykrywających ich materiał genetyczny (PCR), dla których przewidziano również tryb pilny.

Badania zlecone w trybie pilnym posiadają oznakowanie CITO. Są one przyjmowane, dystrybuowane i wykonywane w pierwszej kolejności. Wyniki badań zleconych w tym trybie są autoryzowane niezwłocznie po ich uzyskaniu.

7. Badania zlecane telefonicznie

W wyjątkowych, sytuacjach Laboratorium dopuszcza telefoniczne zlecenie badań mikrobiologicznych do istniejącego już zlecenia lub dostarczonego materiału diagnostycznego (np.

dodatkowy kierunek badania). Obowiązkiem lekarza jest równoczesne wystawienie zlecenia w HIS i w postaci papierowej.

8. Przechowywanie materiału do badań

Badania mikrobiologiczne wykonywane są na bieżąco. W szczególnych, niezależnych od Laboratorium sytuacjach, które uniemożliwiają taki tryb, materiał jest zabezpieczany i przechowywany w warunkach zgodnych z procedurami i zaleceniami producentów testów komercyjnych.

9. Przechowywanie materiału po wykonaniu badań

Po wykonaniu badania mikrobiologicznego (w przypadku szybkich testów) lub posiewu materiał jest zabezpieczany lub utylizowany, w zależności od jego rodzaju i możliwości powtórnego wykonania z niego czynności diagnostycznych.

Materiał	Temperatura	Czas przechowywania
Wymazówka z podłożem transportowym	Temp. pokojowa	Do pierwszego odczytu wyników hodowli (~ 24 godz.)
Mocz – jałowy pojemnik, próbówka z kwasem bornym	4-8°C	Do pierwszego odczytu wyników hodowli (~ 24 godz.)
Kał – posiew	4-8°C	Do pierwszego odczytu wyników hodowli (~ 24 godz.)
PMR - posiew	37°C (cieplarka)	Do czasu zakończenia badania (~ 5 dni)
Plwocina, BAL	4-8°C	24 godz.
Dodatnie butelki systemu automatycznego posiewu krwi i płynów z jam ciała		Do czasu zakończenia badania (~ 3 dni od uzyskania wyniku dodatniego w systemie automatycznym)
Szybkie testy (kasetkowe, PCR)	Zgodnie z zaleceniami producenta testu	

Tabela nr 8 Zasady przechowywania materiału diagnostycznego po wykonaniu czynności diagnostycznych

10. Utylizacja materiału biologicznego

Materiał utylizowany jest w sposób zapewniający ochronę życia i zdrowia ludzi, ochronę środowiska, ochronę danych osobowych. Oprócz materiału biologicznego utylizacji podlegają również materiały zużywalne mające kontakt z materiałem biologicznym oraz płyny powstające w trakcie wykonywania badań. ZDL zabezpiecza odpady do czasu ich odbioru.

11. Wydawanie sprawozdań z badań

Zgodnie z Informatorem ZDL.

12. Wyniki alarmowe (krytyczne)

Sytuacje wymagające przekazania lekarzowi wyniku badania drogą telefoniczną:

- dodatni posiew krwi uzyskany w systemie automatycznym i potwierdzony preparatem mikroskopowym zabarwionym metodą Grama (morfologia bakterii/grzyby drożdżopodobne), wstępna identyfikacja patogenu uzyskana metodą MALDI TOF lub metodą molekularną RT-PCR, multiplex PCR,
- dodatni posiew lub wynik badania multiplex PCR z PMR,
- wynik oceny preparatu bezpośredniego z PMR, wymazu w kierunku zgorzeli gazowej i innych istotnych materiałów,
- identyfikacja drobnoustroju o znanej naturalnej oporności na antybiotyki, którym leczony jest pacjent,
- wykrycie mechanizmu oporności lub oporności na antybiotyki stosowany w terapii, które wymusza konieczność jej modyfikacji,
- wykrycie drobnoustroju o znaczeniu epidemiologicznym (konieczna izolacja pacjenta) – **powiadomić również Zespół Kontroli Zakażeń Szpitalnych**,
- wynik dodatni szybkiego testu kasetkowego, badania molekularnego, jeżeli nie jest możliwe szybkie wydanie raportu.

Każdorazowo informację o przekazaniu wyniku odnotować w LIS poprzez wybór działania DZTELEF i uzupełnić niezbędne informacje (osoba informująca, odbiorca informacji, data i godzina przekazania informacji, wynik przekazywany).