SAMODZIELNY
PUBLICZNY SZPITAL
KLINICZNY NR 2
PUM w Szczecinie

Zarządzenie
Dyrektora Samodzielnego Publicznego Szpitala Klinicznego
Nr 2 PUM w Szczecinie
Nr 427/2023
z dnia 27 listopada 2023 r.

w sprawie zmiany procedury pn. „Pobieranie materiału biologicznego do badań diagnostycznych.".

Na podstawie art. 46 ust. 1 ustawy z dnia 15 kwietnia 2011 r. o działalności leczniczej (Dz. U. z 2023 r. poz. 991 z późn. zm.) oraz § 11 i § 12 ust. 1 lit. a Statutu SPSK-2 zarządzam, co następuje:

§ 1

1. Wprowadzam do stosowania procedurę pn. „Pobieranie materiału biologicznego do badań diagnostycznych", w brzmieniu określonym w załączniku nr 1 do niniejszego zarządzenia.
2. Nadzór nad prawidłową realizacją niniejszego zarządzenia sprawuje kierownik Zakładu Diagnostyki Laboratoryjnej.

§ 2

Zobowiązuję Lekarzy kierujących klinikami, oddziałami, zakładami, kierowników przychodni, poradni i pracowni specjalistycznych, kierowników pozostałych komórek organizacyjnych, pielęgniarki oddziałowe/koordynujące oraz osoby pracujące na stanowiskach samodzielnych do zapoznania się oraz zapoznania podległego personelu z niniejszym zarządzeniem.

§ 3

Z dniem wejścia w życie niniejszego zarządzenia traci moc obowiązującą Zarządzenie Dyrektora SPSK-2 nr 61/2017 z dnia 5 maja 2017 r. w sprawie wprowadzenia do stosowania procedury „Pobieranie i przyjmowanie materiału biologicznego do badań diagnostycznych (SOP nr 19)" w Samodzielnym Publicznym Szpitalu Klinicznym Nr 2 PUM w Szczecinie.

§ 4

Zarządzenie wchodzi w życie z dniem podpisania.

DYREKTOR
Samodzielnego Publicznego
Szpitala Klinicznego Nr 2 PUM w Szczecinie
dr n. med. Bogdan Kos

DYREKTOR SPSK-2

Załącznik:
- ZDL/P/19/2016 „Pobieranie materiału biologicznego do badań diagnostycznych.".

Do wiadomości:
Wg rozdzielnika
Treść opracowała: Natalia Pawłowska-Turek

ZDL/P/19/2016 Pobieranie materiału biologicznego do badań diagnostycznych			
SAMODZIELNY PUBLICZNY SZPITAL KLINICZNY NR 2 PUM w Szczecinie	SYSTEM ZARZĄDZANIA JAKOŚCIĄ	Wydanie: 4	Data wydania: 2023-10-16
		Strona 1 z 49	LA 1.1

1. **Cel procedury:**
   Celem niniejszej procedury jest przedstawienie właściwego sposobu pobierania materiału biologicznego do badań diagnostycznych wykonywanych w Zakładzie Diagnostyki Laboratoryjnej (Laboratorium Centralne, Pracownia Mikrobiologiczna, Pracownia Immunologiczna i HLA, Pracownia Alergologiczna).

2. **Zakres stosowania:**
   Procedura obowiązuje we wszystkich jednostkach/komórkach organizacyjnych SPSK 2, w których pacjenci są: leczeni, hospitalizowani, badani i konsultowani. Procedura obowiązuje wszystkich zleceniodawców zewnętrznych oraz personel Zakładu Diagnostyki Laboratoryjnej.

CZĘŚĆ I. ZAKŁAD DIAGNOSTYKI LABORATORYJNEJ – LABORATORIUM CENTRALNE

3. **Szczegółowy opis postępowania:**
   Każdy rodzaj materiału pobrany od pacjenta jest uważany za **materiał zakaźny** i musi być traktowany jako potencjalne źródło zakażenia. Materiał pobierany jest od pacjenta, który został przygotowany do badania zgodnie z instrukcjami zdefiniowanymi dla każdego z badań (**patrz SOP nr ZDL/P/18/2019 Przygotowanie pacjenta do badań).**

   W przypadku kiedy pacjent nie został odpowiednio przygotowany do badania, personel w trosce o jakość i wiarygodność wyniku, może odstąpić od pobrania materiału i wykonania badania. Decyzja o odstąpieniu od pobrania materiału i wykonania badania musi być zatwierdzona przez Kierownika Zakładu Diagnostyki Laboratoryjnej lub osobę przez niego upoważnioną, a na dyżurach przez kierownika dyżuru - Diagnostę Laboratoryjnego.

   Przed przystąpieniem do pobrania materiału do badań laboratoryjnych należy sprawdzić daty ważności używanych materiałów medycznych oraz sprzętu jednorazowego użytku.
   Nie używać materiałów medycznych i sprzętu jednorazowego użytku z nieaktualną data ważności!!

   Wszystkie odpady powstające podczas pobierania materiału są traktowane jako materiał zakaźny i utylizowane zgodnie z procedurą zgodną z obowiązującym w danym okresie Zarządzenia Dyrektora w sprawie utylizacji wydanym zgodnie z obowiązującym rozporządzeniem Ministra Zdrowia.

Każdorazowo przy pobieraniu materiału od pacjenta osoba pobierająca:

- Odpowiednio przygotowuje pacjenta do zabiegu pobrania krwi: należy z każdym pacjentem porozmawiać, uspokoić, wytłumaczyć cel zabiegu oraz sposób postępowania, aby zniwelować lęk, strach. Nigdy nie należy mówić pacjentowi, że zabieg pobierania krwi jest bezbolesny, należy pacjenta poinformować, iż zabieg pobierania krwi jest nieprzyjemny, lecz krótkotrwały. Pacjent powinien mieć wygodnie ułożoną rękę. Należy

pouczyć pacjenta, aby nie poruszał ręką podczas zabiegu. Gdy pacjent zgłasza, że w przeszłości źle znosił pobieranie krwi, można mu zaproponować, aby położył się na kozetce i w tej pozycji pobrać krew. Gdy pacjent leży, można podłożyć pod łokieć miękki wałek.

- weryfikuje tożsamość pacjenta;
- oznakowuje pojemnik na pobrany materiał zgodnie ze zleceniem na badania laboratoryjne i sprawdza zgodność oznakowania ze zleceniem;
- przy rejestracji materiału w systemie informatycznym Infomedica wpisuje datę i godzinę pobrania materiału oraz osobę pobierającą materiał, zgodnie z wymaganiami niniejszej procedury.

3.1. Pobieranie krwi żylnej:

Do pobierania próbek krwi należy używać zestawów próżniowych jednorazowego użytku (np. zestawy aspiracyjno – próżniowe S-Monovette firmy Sarstedt). Używanie zestawów próżniowych zapewnia właściwą jakość próbek oraz zmniejsza ryzyko kontaktu osób pobierających, transportujących oraz wykonujących analizy z materiałem potencjalnie zakaźnym.

Uwaga: Ponieważ najczęstszym błędem przedlaboratoryjnym jest błąd zamiany próbek, etykiety na probówkach przed pobraniem muszą zostać opatrzone danymi identyfikującymi pacjenta zawierającymi imię i nazwisko. Pobierając materiał należy upewnić się co do tożsamości pacjenta! Opisywanie próbek w statywie, po ich wcześniejszym pobraniu od kilku pacjentów stanowi przyczynę błędów podmiany i jest niedopuszczalne!

Zaleca się pobieranie materiału bezpośrednio z naczynia krwionośnego, unikając wykorzystania do tego celu dostępów naczyniowych zakładanych na stałe.

Pobieranie krwi do strzykawek przeznaczonych do iniekcji i "przestrzykiwanie" do probówek lub innych pojemników uszkadza krwinki i może być przyczyną hemolizy. Nadto, niestandardowe probówki stwarzają ryzyko zanieczyszczenia pobranej próbki m. in. żelazem i detergentami. Dlatego bezwzględnie należy stosować profesjonalne systemy do pobrań.

W przypadku konieczności pobrania krwi za pomocą strzykawek przeznaczonych do iniekcji należy napełniać probówki S-Monovette po usunięciu próżni – dokładnie do kreski wyznaczającej prawidłową objętość krwi. „Przestrzykiwanie" krwi za pośrednictwem igły z jednoczesnym „zaciąganiem" za pomocą próżni jest niedopuszczalne!

Do pobierania krwi do badań laboratoryjnych wykorzystuje się jednorazowe zamknięte zestawy aspiracyjno - próżniowe S-Monovette firmy Sarstedt. Zestawy te umożliwiają pobranie krwi na dwa sposoby:

- metodą podciśnieniową;
- metodą aspiracyjną.

Niezależnie od sposobu pobrania probówka S-Monovette musi być wypełniona krwią do określonej objętości, zgodnie ze wskazaniami producenta.

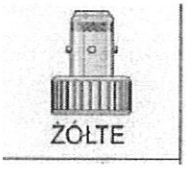
Pożądana objętość jest określona na każdej probówce kreską na naklejce do wpisania danych identyfikacyjnych pacjenta.

Czas napełniania probówki zależy od metody pobrania. W metodzie podciśnieniowej należy odczekać do momentu samoistnego ustania napływu krwi do probówki. W metodzie aspiracyjnej czas pobrania zależy od szybkości odciągania tłoka, przy czym ruch ten powinien być płynny i łagodny. W obu metodach czas napełniania probówki wynosi minimum kilka sekund. Zbyt szybkie odciągnięcie tłoka probówki może być przyczyną wystąpienia hemolizy.

Probówki S-Monovette występują w kilku rodzajach różniących się objętością i kolorem nakrętki. Kolor nakrętki określa rodzaj substancji (najczęściej antykoagulantu) znajdującej się w probówce. Niezmiernie ważne jest, aby kolor probówki, czyli rodzaj pobieranego materiału, odpowiadał konkretnemu badaniu laboratoryjnemu.

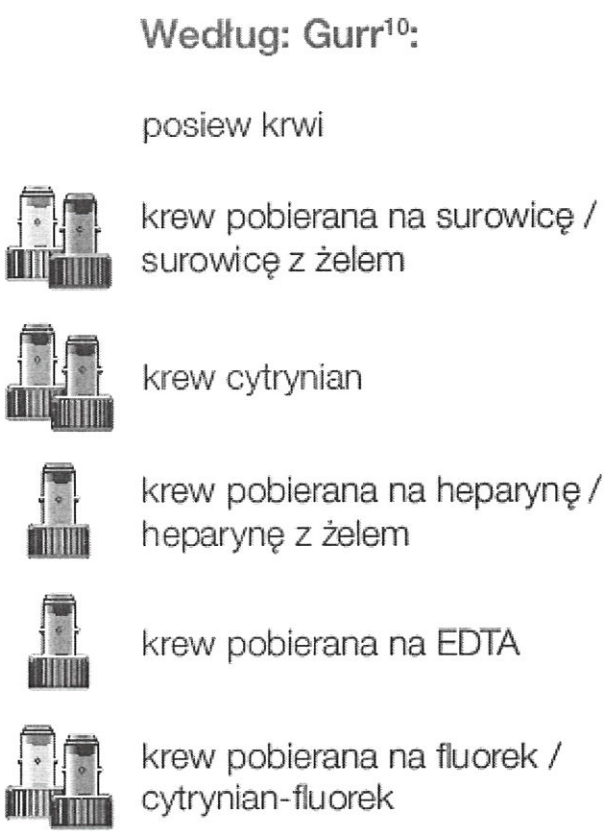
W celu ułatwienia doboru rodzaju probówki do badania zamieszczono poniższą tabelę.

ZDL/P/19/2016 Pobieranie materiału biologicznego do badań diagnostycznych			
SAMODZIELNY PUBLICZNY SZPITAL KLINICZNY NR 2 PUM w Szczecinie	SYSTEM ZARZĄDZANIA JAKOŚCIĄ	Wydanie: 4	Data wydania: **2023-10-16**
		Strona 4 z 49	LA 1.1

Kolor nakrętki	Materiał dodany	Rodzaj próbki	Zastosowanie	Dostępne pojemności	Minimalna ilość krwi potrzebna do oznaczenia określonej liczby parametrów
	Z czynnikiem przyspieszającym wykrzepianie krwi/z żelem	**Surowica**	• Chemia kliniczna • Immunochemia • Serologia	2,7 ml	Od 1 – do 4 parametrów
				4,9 ml	Od 5 – do 10 parametrów
				7,5 ml	Powyżej 10 parametrów
	Napylony K3EDTA o stężeniu 1,6 mg/l ml krwi	**Krew pełna wersenianowa**	• Morfologia krwi • Monitorowanie leków • HbA1c	300 µl	badanie u noworodków lub małych dzieci
				1,2 ml	badanie u małych dzieci lub w przypadku trudności w pobraniu krwi
				2,7 ml	morfologia + dodatkowy rozmaz + retikulocyty – jedna probówka tacrolimus + cyklosporyna + sirolimus – jedna probówka HbA1C – jedna probówka
	Z dodatkiem 3,2 % roztworu cytrynianu sodu (0,11 mol/l)	**Osocze cytrynianowe**	Badania układu krzepnięcia	1,4 ml	1 parametr
				3,0 ml	więcej niż 1 parametr
	Z dodatkiem 3,8 % roztwór cytrynianu sodu (0,13 mol/l)	**Krew pełna cytrynianowa**	OB	2,0 ml	
	Heparyna litowa zbilansowana wapniem o stężeniu 70 IU heparyna/1ml krwi	**Krew pełna heparynowa**	Gazometria, wapń zjonizowany	2,0 ml	
	Fluorek sodu	**Osocze**	Oznaczanie glukozy	2,6 ml	

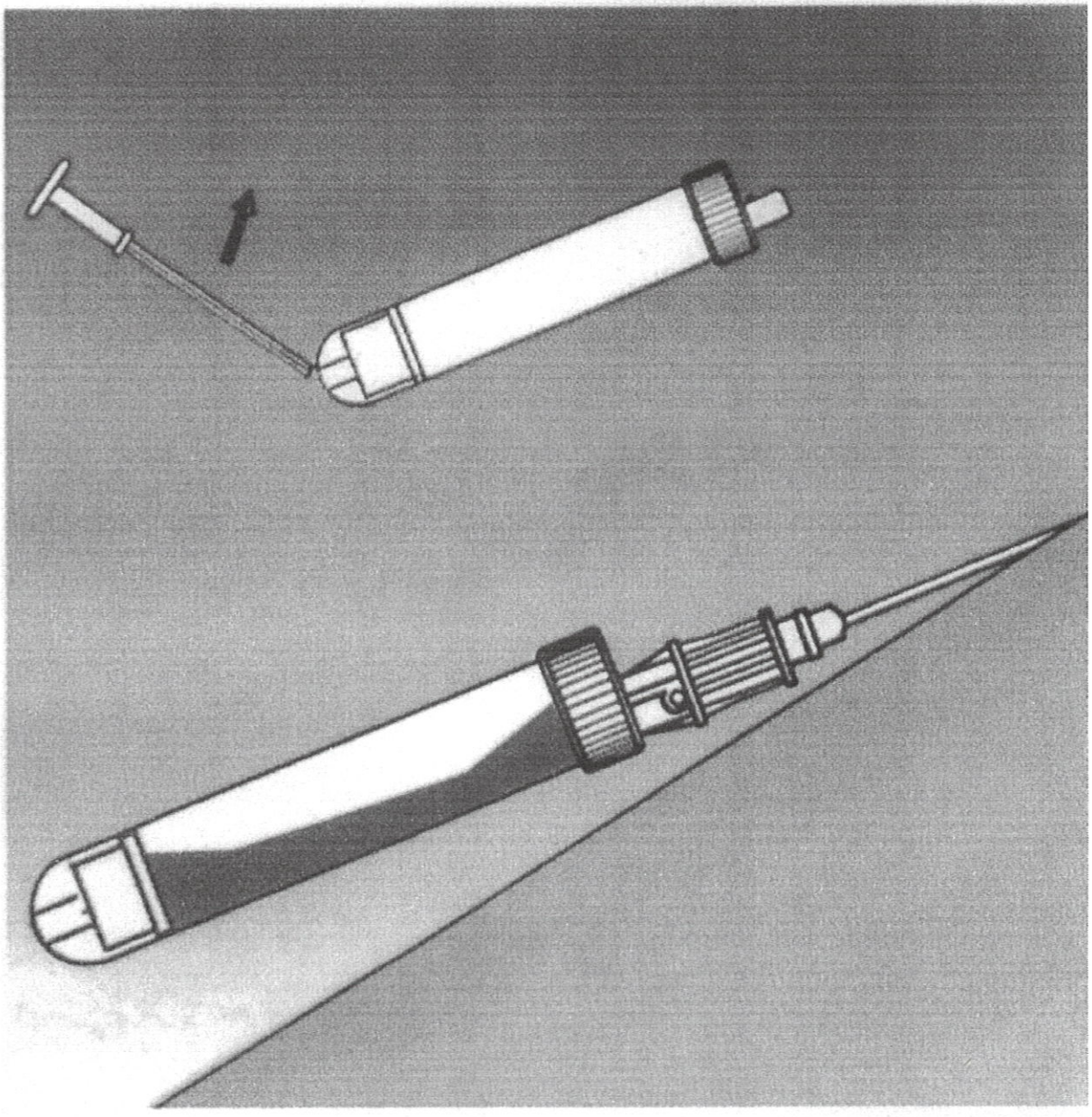
Dodatkowo w przypadku podejrzenia małopłytkowości rzekomej, możliwe jest pobranie krwi do próbówki zawierającej jony Mg^{2+} - probówka S-Monovette 2,7 ml Thromboexact (malinowy korek).

Kolejność napełniania probówek według Gurr*



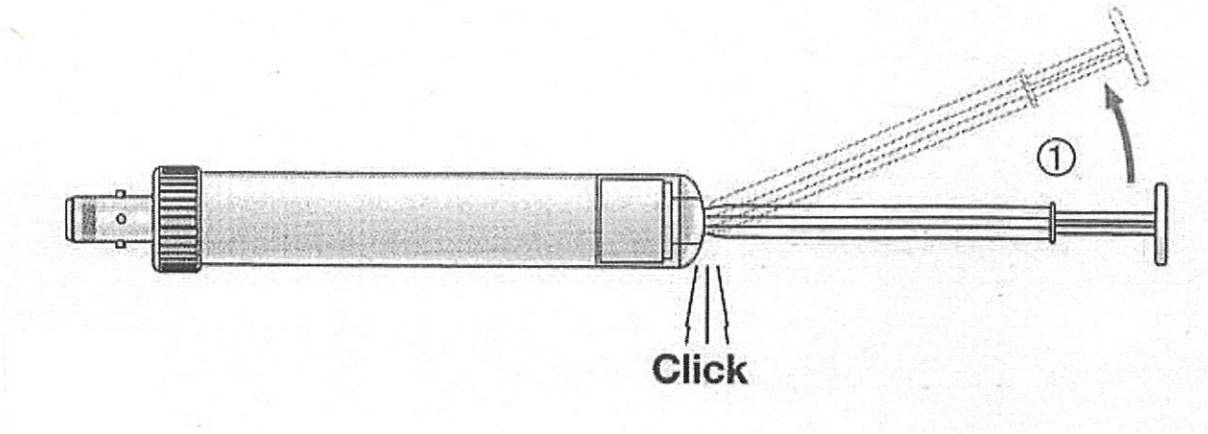
- Gurr et al.:" MusterstandardarbeitsanweisungPraanalytik" J Lab Med. 2011.

3.1.1 Pobieranie krwi metodą podciśnieniową

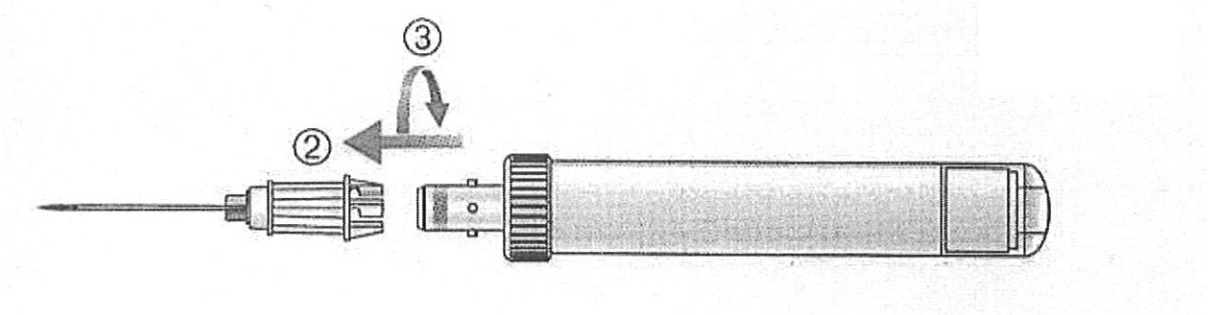


1. Umyć ręce.
2. Zgromadzić odpowiedni sprzęt (zestaw do pobierania próżniowego, stazę, środek do dezynfekcji, rękawiczki, jałowe gaziki, przylepiec)
3. Przygotować pacjenta.

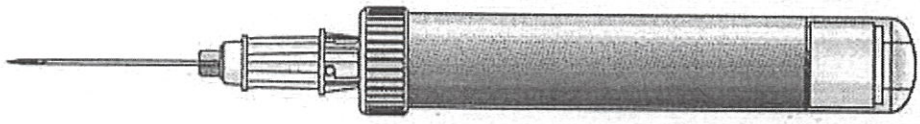
4. Wybrać miejsce wkłucia w następującej kolejności: doły łokciowe obu rąk (ż. odpromieniowa, ż. odłokciowa, ż. pośrodkowa łokciowa, na przedramieniu (ż. odpromieniowa), na grzbiecie rąk (ż. grzbietowa dłoni).
5. Zdezynfekować skórę w miejscu planowanego wkłucia przy użyciu preparatu dezynfekcyjnego (zgodnie z wykazem preparatów używanych w SPSK2).
6. Odczekać około 30 sekund do momentu wyschnięcia preparatu antyseptycznego.
7. Ubrać rękawiczki jednorazowe.
8. Założyć stazę (ok. 10 cm nad planowanym miejscem wkłucia). Ucisk stazy powinien być umiarkowany i nie powinna być zaciśnięta dłużej niż na 1 minutę.
9. Odpakować igłę z opakowania.
10. Bezpośrednio przed pobraniem krwi należy odciągnąć maksymalnie tłok S - Monovette, aż do wyczuwalnego zatrzaśnięcia, po czym tłok musi zostać odłamany (krok 1 na rysunku).



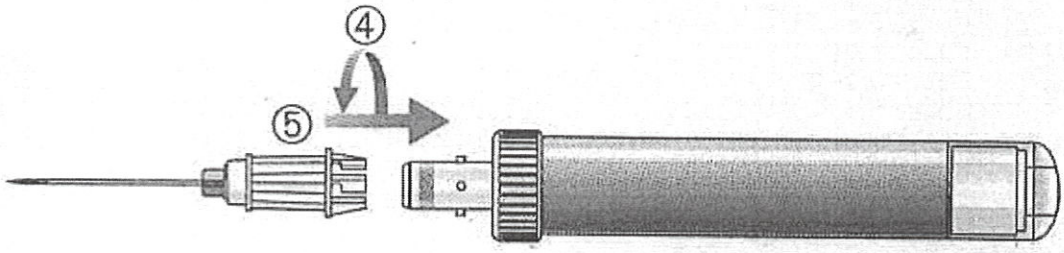
11. Wkłuć igłę do naczynia.
12. Podłączyć S-Monovette do igły i umocować poprzez lekki obrót w prawo (krok 2 +3 na rysunku).
13. Poluzować stazę,



14. Odczekać, aż ustanie napływ krwi.



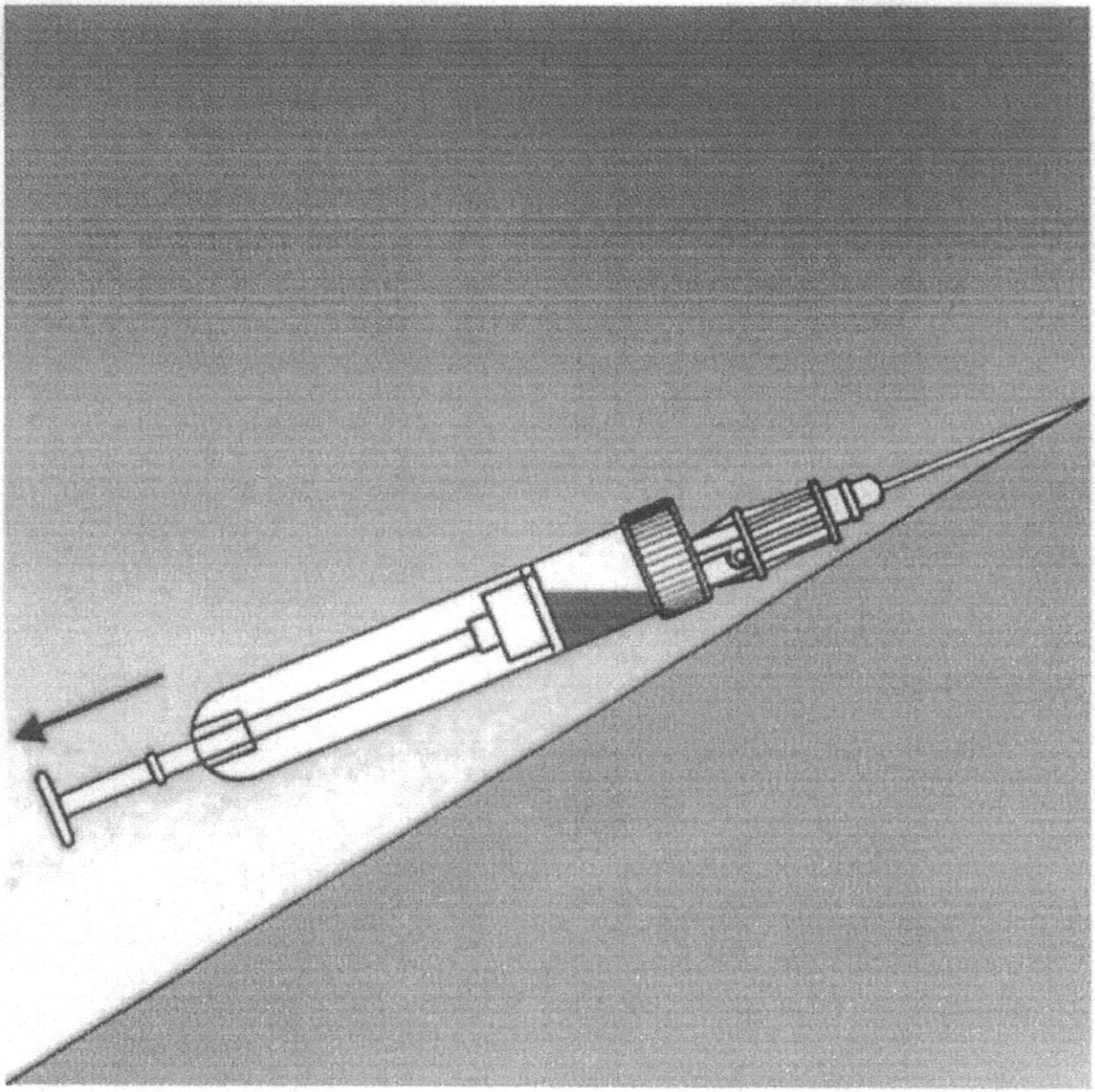
15. Odłączyć S-Monovette poprzez lekki obrót w lewo (krok 4 na rysunku). Igłę pozostawić w żyle.



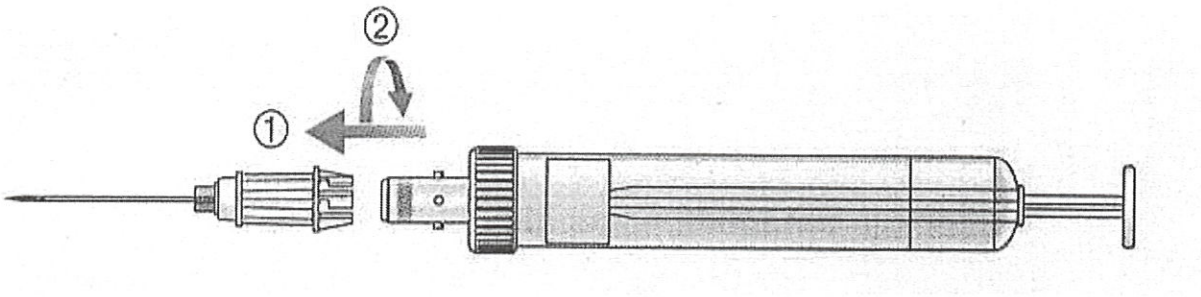
16. W razie potrzeby pobrania dalszych próbek podłączyć kolejno następne S-Monovette i pobierać krew tak jak opisano w punktach 12-15.
17. Aby zakończyć pobieranie krwi należy najpierw odłączyć S-Monovette (krok 4 na rysunku), a dopiero potem wycofać igłę z żyły (krok 5 na rysunku).
18. Po usunięciu igłę należy umieścić w pojemniku na ostre zużyte sprzęty (zgodnie z obowiązującymi procedurami).
19. Po usunięciu igły miejsce wkłucia należy ucisnąć jałowym gazikiem.
20. Założyć opatrunek, który pacjent może zazwyczaj usunąć po 10 minutach.
21. Zdjąć rękawiczki jednorazowe i umieścić je w pojemniku na odpady medyczne zakaźne.

22. Probówki z antykoagulantem (kolor pomarańczowy, czerwony, zielony i fioletowy, malinowy) należy po pobraniu delikatnie wymieszać poprzez 8 – 10-krotne obrócenie probówki do góry dnem. Probówek bez antykoagulantu (kolor biały) nie należy mieszać. Ustawić PIONOWO w statywie.
23. Probówki należy zidentyfikować poprzez napisanie na naklejce imienia i nazwiska pacjenta oraz naklejenie kodu kreskowego.
24. Umyć i zdezynfekować ręce.

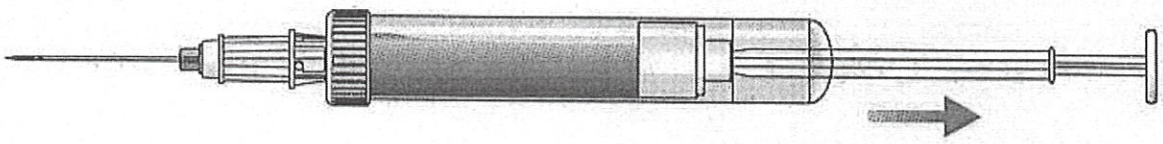
3.1.2 Pobieranie krwi metodą aspiracyjną.



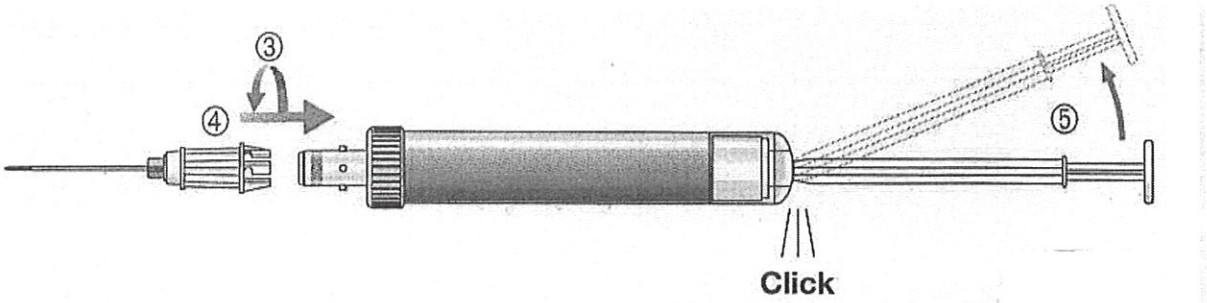
1. Umyć ręce.
2. Zgromadzić odpowiedni sprzęt.
3. Przygotować pacjenta.
4. Wybrać miejsce wkłucia.
5. Zdezynfekować skórę w miejscu planowanego wkłucia przy użyciu preparatu dezynfekcyjnego (zgodnie z wykazem preparatów używanych w SPSK2).
6. Odczekać około 30 sekund do momentu wyschnięcia preparatu antyseptycznego.
7. Umyć i zdezynfekować ręce.
8. Ubrać rękawiczki jednorazowe.
9. Założyć stazę.
10. Odpakować igłę z opakowania.
11. Bezpośrednio przed pobraniem krwi igłę nakłada się końcówkę S-Monovette i mocuje przez lekki obrót w prawo (krok 1 + 2 na rysunku).



12. Nakłuć żyłę, poluzować stazę i powoli odciągać tłok. Odczekać aż ustanie napływ krwi.



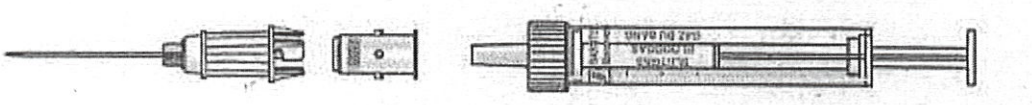
13. Odłączyć S-Monovette od igły poprzez lekki obrót w lewo (krok 3 + 4 na rysunku). Igłę pozostawić w żyle.



14. W razie potrzeby pobierania dalszych próbek podłączyć kolejno następne S – Monovette do igły i pobierać krew tak jak opisano w punktach 11-13.
15. Aby zakończyć pobieranie krwi należy najpierw odłączyć S-Monovette (krok 3 na rysunku), a dopiero potem wycofać igłę z żyły (krok 4 na rysunku).
16. Po usunięciu igłę należy umieścić w pojemniku na ostre zużyte sprzęty (zgodnie z obowiązującymi procedurami obowiązującymi w SPSK2).
17. Po usunięciu igły miejsce wkłucia należy ucisnąć jałowym gazikiem.
18. Założyć opatrunek, który pacjent może zazwyczaj usunąć po 10 minutach.
19. Do transportu lub wirowania należy odciągnąć tłok, aż do zatrzaśnięcia, po czym go odłamać (krok 5 na rysunku).
20. Zdjąć rękawiczki jednorazowe i umieścić je w pojemniku na odpady medyczne zakaźne.
21. Probówki z antykoagulantem (kolor pomarańczowy, czerwony, zielony i fioletowy) należy po pobraniu delikatnie wymieszać poprzez 8 – 10-krotne obrócenie probówki do góry dnem. Probówek bez antykoagulantu (kolor biały) nie należy mieszać.
22. Probówki należy zidentyfikować poprzez napisanie na naklejce imienia i nazwiska pacjenta.
23. Umyć i zdezynfekować ręce.

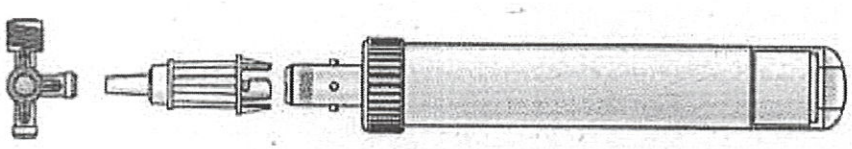
3.1.3 Pobieranie krwi innymi sposobami

A. W przypadku konieczności pobrania krwi za pomocą Luer-Monovette (np. zestawy do gazometrii) można użyć adaptera membranowego.

A 

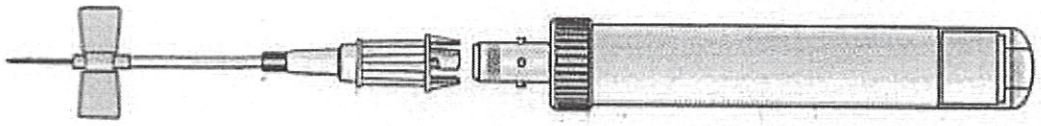
B. W przypadku pobierania krwi z końcówek typu luer (motylki, cewniki żylne itp.) można pobierać krew za pomocą multi adaptera.

B



C. W wypadku potrzeby użycia igły typu motylek można zastosować igłę Multifly z zintegrowanym multi adapterem.

C



3.2 Pobieranie krwi włośniczkowej

Nakłucie opuszki palca, płatka ucha lub pięty jest procedurą z wyboru w przypadku pobierania niewielkiej ilości krwi, najczęściej u dzieci. W przypadku osób dorosłych krew włośniczkowa może być używana do gazometrii, oznaczania glukozy i mleczanów i inne.

Miejsca, z których można pobierać krew włośniczkową przedstawiono na Ryc. 1 i 2. Są to boczna powierzchnia opuszki 3 i 4 palca lewej ręki oraz boczna i przyśrodkowa podeszwowa powierzchnia pięty.

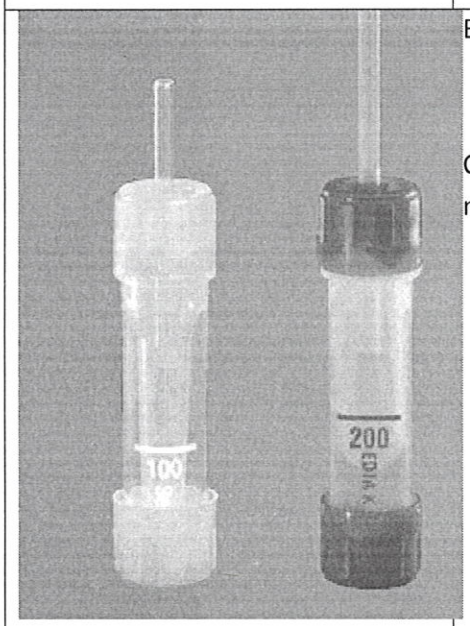
Nakłucie palca nie powinno być stosowane u niemowląt ze względu na ryzyko uszkodzenia kości. Pięta jest preferowanym miejscem nakłucia u wcześniaków, noworodków i niemowląt poniżej 5 kg masy ciała. U niemowląt i dzieci o wadze powyżej 10 kg miejscem preferowanym jest palec lewej ręki.

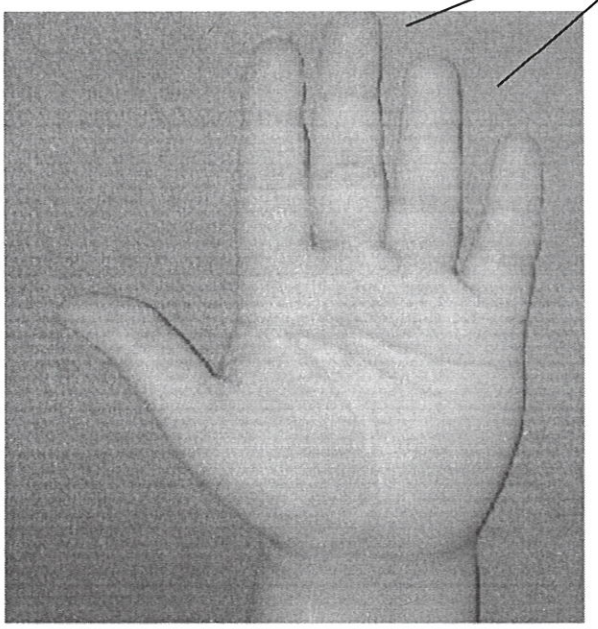
3.2.1. Kolejność czynności

- przygotowanie zestawu do nakłucia (waciki, nakłuwacze, środek dezynfekcyjny, kapilary heparynizowane, probówki z EDTA, pojemniki na odpady i brudne waciki);
- przygotowanie miejsca nakłucia - boczną powierzchnię opuszki trzeciego lub czwartego palca lewej ręki;
- dezynfekować 3 lub 4 palec lewej ręki (nakłucie opuszki palca - głębokość nakłucia ok. 1,6 - 1,8 mm);
- wytarcie pierwszej kropli krwi suchym wacikiem, gdyż zawiera ona domieszkę płynu śródmiąższowego i wewnątrzkomórkowego oraz złuszczający się naskórek;
- pobranie krwi do kapilar - krew powinna swobodnie napływać do poziomo ustawionej kapilary;

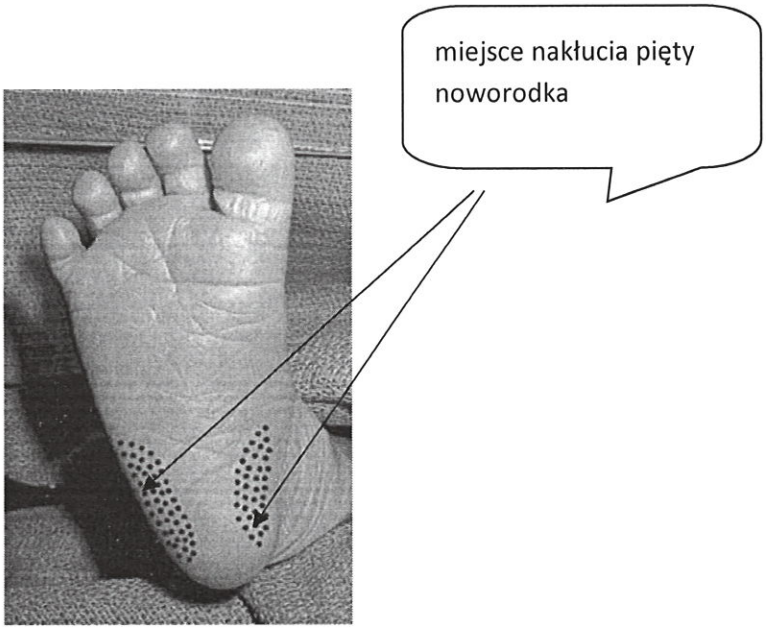
- należy unikać powstawania pęcherzyków powietrza. Niewskazane jest zbyt mocne uciskanie miejsca nakłucia, gdyż ucisk spowodować może wypływanie płynu śródtkankowego i czynników krzepnięcia (tromboplastyny) przyspieszających proces krzepnięcia;
- zabezpieczyć miejsce nakłucia plastrem.

Rodzaje probówek pediatrycznych do pobierania krwi włośniczkowej

	Rodzaj korka
	Biały - surowica Czerwony - probówka z EDTA - morfologia



Rysunek 1



Rysunek 2

3.3 Rodzaje materiałów biologicznych do badań laboratoryjnych

Surowica:

Surowicę uzyskuje się w wyniku odwirowania skrzepu krwi żylnej pobranej do suchej probówki. Z uwagi na możliwość otrzymywania nieprawidłowych wyników zaleca się pobieranie krwi na „skrzep" wyłącznie do probówek z białym korkiem zawierających aktywator krzepnięcia lub probówek z brązowym korkiem zawierające żel.

Probówka powinna być czytelnie podpisana imieniem i nazwiskiem pacjenta oraz oklejona kodem kreskowym.

Proces krzepnięcia w temperaturze pokojowej powinien trwać około 20 minut, ale nie dłużej niż godzinę. W tym czasie krew powinna być dostarczona do Punktu Przyjęć Materiału, gdzie surowica zostanie oddzielona od skrzepu (wirowanie). Dłuższe przechowywanie nieodwirowanej krwi może spowodować zmiany wpływające na jakość wyników.

Jeżeli krew po pobraniu nie może być w ciągu godziny dostarczona do laboratorium, próbkę należy odwirować na miejscu, a do badań przesłać surowicę, która w większości wypadków może być przechowywana w lodówce nawet przez 24 godziny.

Przy wykonywaniu większej liczby badań z tej samej próbki krwi wskazane jest pobranie krwi do probówki o objętości 7,5 ml. W przypadku zlecenia pojedynczych badań wystarczające jest pobranie krwi do probówek o pojemności 2,6 ml lub 4,5 ml.

Krew pełna (morfologia, gazometria i inne)

Krew pełna używana jest do badań morfologii krwi, badań gazometrycznych, OB, monitorowania leków, hemoglobiny glikowanej (HbA1c).

Probówki do badań **morfologicznych** zawierające jako antykoagulant wersenian potasowy (K_3EDTA) o stężeniu 1 mg/ml krwi oznaczone są czerwonym kolorem korka.

Po pobraniu krwi do probówki o pojemności 2,7ml lub 1,2 ml należy ją delikatnie wymieszać poprzez 8-10 - krotne delikatne odwrócenie probówki do góry dnem (rozpuszczenie antykoagulantu i wymieszanie z krwią). Przy mieszaniu należy unikać wstrząsania probówki co może prowadzić do pienienia się krwi powodującego hemolizę. Właściwy poziom napełnienia probówki krwią jest zaznaczony na etykiecie probówki. Prawidłowa objętość krwi jest niezbędna dla zapewnienia stałego stężenia antykoagulantu i odpowiedniej proporcji antykoagulantu do krwi. Zarówno zbyt mała jak i zbyt duża ilość krwi może powodować uzyskanie niewiarygodnych wyników.

W przypadku konieczności wykonania badań morfologicznych u noworodków i niemowląt stosuje się probówki o pojemności 300 µl z kapilarą do pobierania krwi włośniczkowej arterializowanej z opuszki palca bądź pięty.

Do badań **gazometrycznych** właściwym materiałem jest zabezpieczona przed dostępem powietrza (również w strzykawce) pełna krew tętnicza, pobierana z tętnicy do strzykawek gazometrycznych z pomarańczowym korkiem i napisem Bloodgas. Zawierają one jako antykoagulant buforowaną heparynę litową zbalansowaną wapniem.
Dopuszczalne jest pobranie krwi włośniczkowej arterializowanej z opuszki palca lub płatka ucha. W takim wypadku należy używać kapilar heparynizowanych. Napełniamy całą kapilarę krwią, umieszczamy w niej metalowy pręcik, dokładnie zamykamy i starannie mieszamy przy użyciu magnesu.
Krew do badań gazometrycznych powinna być niezwłocznie **(w ciągu 15 minut)** dostarczona do laboratorium, w przeciwnym wypadku należy ją przechowywać i transportować w pojemniku z chłodziwem - temperatura 0-4°C. Dłuższe przechowywanie próbki (szczególnie w temperaturze pokojowej) spowoduje istotne zmiany oznaczanych parametrów.

Probówki do badań **OB** zawierające odpowiednią objętość roztworu cytrynianu o stężeniu 3,8%, dokładnie w stosunku 1:4, oznaczone są **kolorem fioletowym korka.** Odpowiedni poziom napełnienia probówki zaznaczony jest na probówce.
Po pobraniu krwi do probówki o pojemności 2,7 ml lub 1,2 ml należy ją delikatnie wymieszać z antykoagulantem poprzez 8-10 -krotne delikatne odwrócenie probówki do góry dnem.

Do pobierania materiału przeznaczonego **do badań koagulologicznych** należy używać probówek z **zielonym korkiem**.
Badania układu hemostazy wykonuje się w osoczu uzyskanym po odwirowaniu krwi żylnej pobranej na 3,2% cytrynian sodu, dokładnie w stosunku 9:1.
Po pobraniu krwi do probówki o pojemności 2,7 ml lub 1,2 ml należy ją delikatnie wymieszać z antykoagulantem poprzez 8-10-krotne delikatne odwrócenie probówki do góry dnem.
Odpowiedni poziom wypełnienia krwią jest zaznaczony na probówce. Brak odpowiednich proporcji pomiędzy krwią i antykoagulantem w poważnym stopniu zaburza wynik badania!
Materiał powinien być jak najszybciej dostarczony do Punktu Przyjęć Materiału.

Mocz do wykonywanego rutynowo badania ogólnego jest pozyskiwany od osób badanych:

- z pierwszej porannej mikcji;
- po wypoczynku nocnym;
- na czczo;
- przy zachowaniu dotychczasowej diety;
- przed leczeniem lub po ewentualnym odstawieniu leków mogących wpływać na poziom mierzonego składnika (o ile nie zaburza to procesu leczenia);
- z tzw. „środkowego strumienia" (patrz **załącznik nr 1 do SOP nr ZDL/P/18/2016 Instrukcja „Pozyskiwanie moczu do badań laboratoryjnych").**

Do badania **wydalania dobowego poszczególnych analitów (np. dobowe wydalanie białka, mocznika) należy** przeprowadzić **dobową zbiórkę moczu.**
Zbiórkę zwykle rozpoczyna się rano po opróżnieniu pęcherza i odrzuceniu pierwszej porcji moczu (należy dokładnie zanotować godzinę).
Następnie do czystego, zdezynfekowanego naczynia zbiera się wszystkie dalsze porcje moczu. Ostatnią porcją kończącą zbiórkę jest porcja "po nocy" – pierwsza porcja moczu w dniu następnym. W czasie zbiórki dobowej pojemnik z moczem przechowujemy w temperaturze 2-8°C.

Po dołączeniu rannej porcji moczu oddanej dokładnie 24 godziny po rozpoczęciu zbiórki należy starannie wymieszać i zmierzyć objętość zgromadzonego moczu, a następnie wysłać do laboratorium próbkę o objętości około 50 ml z informacją o całkowitej objętości zebranego moczu **(patrz Załącznik nr 1 SOP nr ZDL/P/18/2019 Instrukcja „Pozyskiwanie moczu do badań laboratoryjnych").**

Niewielką ilość **kału** (porcja wielkości orzecha włoskiego) pobieramy do specjalnego pojemnika zaopatrzonego w łopatkę. Materiał powinien być pobrany z różnych miejsc tej samej porcji kału. Próbkę do czasu dostarczenia do laboratorium należy przechowywać w temperaturze 2-8°C.
Przygotowano instrukcję dla pacjentów „Pozyskiwanie kału do badań laboratoryjnych", która stanowi **załącznik nr 2 SOP nr ZDL/P/18/2019.**

Płyny z jam ciała, niezależnie od jego rodzaju i miejsca zgromadzenia, zawsze pobiera lekarz przez nakłucie jamy ciała za pomocą igły punkcyjnej.

Płyn należy pobrać do następujących pojemników według rodzaju zlecenia:

- 50 - 100 ml płynu – do określenia cech fizycznych i oznaczenia parametrów biochemicznych (do pojemnika na mocz);
- 2,7 ml płynu na antykoagulant – do badań cytologicznych - określenie liczby komórek. (do probówki z czerwonym korkiem, tak jak na morfologię);
- do sterylnej probówki lub bezpośrednio na podłoże transportowe – do badań mikrobiologicznych.

Równolegle z pobraniem płynu, należy pobrać 4,5 ml krwi na skrzep. Ma to na celu porównanie stężenia badanych parametrów w płynie i w surowicy krwi oraz wyliczenie współczynnika Q, który ma większą wartość diagnostyczną, w porównaniu ze stężeniami badanych parametrów w płynie.

Płyn mózgowo-rdzeniowy jest pobierany przez lekarza. Próbkę należy pobrać do ogrzanej do temperatury 37°C jałowej probówki. Należy odrzucić pierwsze 0,5 ml płynu i wszystkie porcje zawierające krew. W zależności od stanu klinicznego pacjenta i zleconych badań pobiera się od 2 ml PMR u dzieci do 10 ml PMR u dorosłych. W przypadku poszukiwania komórek nowotworowych niezbędna jest szczególnie duża objętość płynu. Miejsce wkłucia zabezpieczyć jałowym opatrunkiem.
Pobrany materiał natychmiast dostarczyć do laboratorium w temperaturze 37°C.

Uwaga! Wskazane jest aby pobieranie płynów z jam ciała i płynu mózgowo-rdzeniowego do badań laboratoryjnych było wykonywane w godzinach przedpołudniowych.

CZĘŚĆ II. PRACOWNIA IMMUNOLOGICZNA I HLA

1. Szczegółowy opis postępowania

Każdy rodzaj materiału pobrany od pacjenta jest uważany za materiał zakaźny i musi być traktowany jako potencjalne źródło zakażenia.

Materiał jest pobierany od pacjenta, który został przygotowany do badania zgodnie z instrukcjami zdefiniowanymi dla każdego z badań.

W przypadku, kiedy pacjent nie został odpowiednio przygotowany do badania, laboratorium, w trosce o jakość i wiarygodność wyniku, może odstąpić od pobrania materiału do badania i wykonania badania.

Sytuacja taka każdorazowo zostaje dokładnie opisana przez pracownika laboratorium, który podjął decyzję o odstąpieniu od pobrania materiału, a decyzja o odstąpieniu od pobrania materiału i wykonania badania musi być zatwierdzona przez Kierownika Laboratorium lub osobę przez niego upoważnioną.

Wszystkie odpady powstające podczas pobierania materiału są traktowane jako materiał zakaźny i utylizowane zgodnie z procedurą zgodną z obowiązującym w danym okresie Rozporządzeniem Dyrektora w sprawie utylizacji wydanym zgodnie z obowiązującym rozporządzeniem Ministra Zdrowia.

Każdorazowo przy pobieraniu materiału od pacjenta osoba pobierająca:

- stosuje nową parę rękawiczek jednorazowego użytku;
- weryfikuje tożsamość pacjenta;
- oznakowuje pojemnik na pobrany materiał zgodnie z kartą zleceń i sprawdza zgodność oznakowania ze zleceniem;
- składa na zleceniu podpis potwierdzający pobranie materiału oraz wpisuje datę i godzinę pobrania materiału zgodnie z wymaganiami niniejszej procedury.

1.1. Pobieranie krwi żylnej

Do pobierania próbek krwi należy używać zestawów próżniowych jednorazowego użytku (zestawy aspiracyjno – próżniowe S-Monovette firmy Sarstedt). Używanie zestawów próżniowych zapewnia właściwą jakość próbek oraz zmniejsza ryzyko kontaktu osób pobierających, transportujących oraz wykonujących analizy z materiałem potencjalnie zakaźnym.

Uwaga: Ponieważ najczęstszym błędem przedlaboratoryjnym jest błąd zamiany próbek, etykiety na probówkach przed pobraniem muszą zostać opatrzone danymi identyfikującymi pacjenta zawierającymi imię i nazwisko. Pobierając materiał należy upewnić się co do tożsamości pacjenta! Opisywanie próbek w statywie, po ich wcześniejszym pobraniu od kilku pacjentów stanowi przyczynę błędów podmiany i jest niedopuszczalne!

Zaleca się pobieranie materiału bezpośrednio z naczynia krwionośnego, unikając wykorzystania do tego celu dostępów naczyniowych zakładanych na stałe.

Pobieranie krwi do strzykawek przeznaczonych do iniekcji i "przestrzykiwanie" do probówek lub innych pojemników uszkadza krwinki i może być przyczyną hemolizy. Nadto, niestandardowe probówki stwarzają ryzyko zanieczyszczenia pobranej próbki m. in. żelazem i detergentami. Dlatego bezwzględnie należy stosować profesjonalne systemy do pobrań.
W przypadku konieczności pobrania krwi za pomocą strzykawek przeznaczonych do iniekcji należy napełniać probówki S-Monovette po usunięciu próżni – dokładnie do kreski wyznaczającej prawidłową objętość krwi. „Przestrzykiwanie" krwi za pośrednictwem igły z jednoczesnym „zaciąganiem" za pomocą próżni jest niedopuszczalne!

Do pobierania krwi do badań laboratoryjnych wykorzystuje się jednorazowe zamknięte zestawy aspiracyjno-próżniowe S-Monovette firmy Sarstedt. Zestawy te umożliwiają pobranie krwi na dwa sposoby:

- metodą podciśnieniową;
- metodą aspiracyjną.

Nie wolno pobierać krwi z kaniuli dożylnej (wenflonu) i dojść zakładanych na stałe. Krew należy pobierać bezpośrednio z naczynia krwionośnego.

Niezależnie od sposobu pobrania probówka S-Monovette musi być wypełniona krwią do określonej objętości, zgodnie ze wskazaniami producenta. Pożądana objętość jest określona na każdej probówce kreską na naklejce do wpisania danych identyfikacyjnych pacjenta. Czas napełniania probówki zależy od metody pobrania. W metodzie podciśnieniowej należy odczekać do momentu samoistnego ustania napływu krwi do probówki. W metodzie aspiracyjnej czas pobrania zależy od szybkości odciągania tłoka, przy czym ruch ten powinien być płynny i łagodny. W obu metodach czas napełniania probówki wynosi minimum kilka sekund. Probówki S-Monovette występują w kilku rodzajach różniących się objętością i kolorem nakrętki. Kolor nakrętki określa rodzaj substancji (najczęściej antykoagulantu) znajdującej się w probówce. Niezmiernie ważne jest, aby kolor probówki, czyli rodzaj pobieranego materiału, odpowiadał konkretnemu badaniu laboratoryjnemu.

1.2. Rodzaje materiałów biologicznych do badań immunologicznych

Surowica:
Badanie w kierunku: chorób autoimmunologicznych – ANA, APCA, AMA, ASMA, APCA, GBM, EmA, PLAR2, ANCA, tGT; diagnostyka infekcyjna – DNA BKV, DNA CMV, antygen mannanowy *Candida*, DNA HBV, RNA HVC, DNA *Parvovirus,* DNA HSV 1/2, antygen galaktomannanowy *Aspergillus*, przeciwciała przeciw: EBV, HSV1/2, *Borrelia*, *Helicobacterpylori*, *Mycoplasm apneumoniae*, *Chlamydophila pneumoniae*, *Treponema pallidum*, SARS-Cov-2, poziom składowych dopełniacza, PRA (biorca), cross-match (biorca), anty-HLA, diagnostyka alergologiczna: panel pediatryczny, wziewny, pokarmowy oraz screen.

Pobranie: surowicę uzyskuje się w wyniku odwirowania skrzepu krwi żylnej pobranej do suchej probówki. Z uwagi na możliwość otrzymywania nieprawidłowych wyników zaleca się pobieranie krwi na „skrzep"

wyłącznie do probówek zawierających aktywator krzepnięcia. Probówka powinna być czytelnie podpisana imieniem i nazwiskiem pacjenta oraz oklejona kodem kreskowym.

Proces krzepnięcia w temperaturze pokojowej powinien trwać około 20 minut, ale nie dłużej niż godzinę. W tym czasie krew powinna być dostarczona do Punktu Przyjęć Materiału, gdzie surowica powinna zostać oddzielona od skrzepu poprzez wirowanie. Dłuższe przechowywanie nieodwirowanej krwi może spowodować zmiany wpływające na jakość wyników.

Jeżeli krew po pobraniu w ciągu godziny nie może być dostarczona do laboratorium, wtedy próbkę należy odwirować na miejscu, a do badań należy przesłać surowicę, która w większości wypadków może być następnie przechowywana w lodówce w temp. 2-8° C.

W przypadku badań immunologicznych w kierunku chorób autoimmunologicznych i diagnostyki alergologicznej i większości chorób infekcyjnych wskazane jest pobranie krwi do probówki o objętości 2,7 ml. Wyjątek stanowi detekcja antygenu mannanowego *Candida*, antygenu galaktomannanowego *Aspergillus*, DNA CMV, DNA BKV, DNA HBV, RNA HCV, EBV, Parvovirus, HSV -1 - wskazane jest pobranie probówek o większej pojemności 4,9 – 7,5 ml.

Transport: Pobraną próbkę materiału opisać i bezpośrednio po pobraniu transportować do pracowni. Transport materiału przeprowadzany jest w temperaturze pokojowej.

Krew pełna pobrana na antykoagulant K_3 EDTA:
Badanie w kierunku: oznaczenia pojedynczych antygenów HLA - DQ2/8 w celiakii, B27 w ZZSK, oznaczanie antygenów HLA klasy I (locus A, B, C) i/lub klasy II (locus DR, Da, DP) – biorcy szpiku kostnego, potencjalni, spokrewnieni dawcy szpiku kostnego, biorcy nerek, potencjalni rodzinni biorcy nerek.

Pobranie: Probówki do w/w badań zawierają jako antykoagulant wersenian-potasowy (K_3 EDTA) o stężeniu 1 mg/ml. Po pobraniu krwi do probówki o pojemności 2,7 ml należy ją delikatnie wymieszać w celu rozpuszczenia antykoagulantu. Mieszamy poprzez 8-10-krotne delikatne odwrócenie probówki do góry dnem. Przy mieszaniu należy unikać wstrząsania probówki co może prowadzić do pienienia się krwi powodującego hemolizę .
Właściwy poziom wypełnienia probówki krwią oznaczono kreską na nalepce probówki. Prawidłowe napełnienie jest warunkiem zapewnienia stałego stężenia antykoagulantu i odpowiedniej proporcji antykoagulantu do krwi. Zarówno zbyt mała jak i zbyt duża ilość krwi może powodować powstawanie niewiarygodnych wyników.

Transport: Pobraną próbkę materiału opisać i bezpośrednio po pobraniu materiał transportować do pracowni. Transport materiału przeprowadzany jest w temperaturze pokojowej. Jeśli transport nie jest możliwy pobrany materiał można zamrozić i przechowywać w temperaturze -20°C do czasu wykonania analizy.

Krew pełna pobrana na antykoagulant 3,8 % cytrynian sodu
Badanie w kierunku: test fagocytarny i NBT

Pobranie: Probówki do w/w badań **zawierają** jako antykoagulant 3,8% cytrynian sodu. Po pobraniu krwi do probówki o pojemności 2,7 ml należy ją delikatnie wymieszać z antykoagulantem. Mieszamy poprzez 8-10–krotne delikatne odwrócenie probówki do góry dnem. Przy mieszaniu należy unikać wstrząsania probówki co może prowadzić do pienienia się krwi powodującego hemolizę. Właściwy poziom napełnienia probówki krwią oznaczono na etykiecie probówki. Jest to warunek zapewnienia stałego stężenia antykoagulantu i odpowiedniej proporcji antykoagulantu do krwi. Zarówno zbyt mała jak i zbyt duża ilość krwi może powodować uzyskanie niewiarygodnych wyników.

Transport: Pobraną próbkę materiału opisać i bezpośrednio po pobraniu transportować w temperaturze pokojowej do pracowni. Materiał powinien być transportowany w temperaturze pokojowej.

Krew pełna pobrana na antykoagulant heparynę
Badanie w kierunku: cross-match (dawca)

Pobranie: Probówki do w/w badań zawierają jako antykoagulant heparynę. Po pobraniu krwi do probówki o pojemności 7,5 ml należy ją delikatnie wymieszać w celu wymieszania z antykoagulantem. Mieszamy poprzez 8-10-krotne delikatne odwrócenie probówki do góry dnem. Przy mieszaniu należy unikać wstrząsania probówki co może prowadzić do pienienia się krwi powodującego hemolizę .
Właściwy poziom napełnienia probówki krwią oznaczono na etykiecie probówki. Jest to warunek zapewnienia stałego stężenia antykoagulantu i odpowiedniej proporcji antykoagulantu do krwi. Zarówno zbyt mała jak i zbyt duża ilość krwi może powodować powstawania niewiarygodnych wyników.

Transport: Pobraną próbkę materiału opisać i bezpośrednio po pobraniu materiał transportować do pracowni. Materiał powinien być transportowany w temperaturze pokojowej.

1.3. Pobieranie materiału z dróg oddechowych

Metodyka pobierania i transportowania wymazu z nosa/nosogardzieli:
Badanie w kierunku: RNA *Influenza* Virus RSV/CoV2; DNA *Pneumocystisjiroveci*

Przygotowanie do badania: Przed pobraniem materiału w kierunku detekcji RNA wirusa grypy/RSV należy pobrać z Apteki Szpitalnej zestaw – wymazówkę jedwabną z odpowiednim podłożem transportowym.

W przypadku badania w kierunku detekcji DNA *Pneumocystis jiroveci* zalecane jest zastosowanie cienkiej wymazówki firmy *Copan* oraz jałowego pojemniczka z solą fizjologiczną (nie więcej niż 5-10 ml soli fizjologicznej).

Pobranie:

a. Przed pobraniem pacjent powinien wydmuchać nos.
b. W przypadku wirusa grypy/RSV/CoV2 materiał pobrać przez wprowadzenie wymazówki do nosogardzieli i pocieranie błony śluzowej nosa (dziurka prawa i lewa) przy pomocy

cienkiej jałowej wymazówki, zaś w przypadku badania w kierunku *Pneumocystis* wymazówką *Copan* z przedsionka nosa.

c. Po pobraniu wymazu wymazówkę umieścić w podłożu transportowym (koniec patyczka wymazowego odłamać tuż przy zakrętce) lub soli fizjologicznej – 5-10 ml.

Transport: Pobraną próbkę materiału opisać i bezpośrednio po pobraniu materiał transportować do Pracowni. Transport podłoża przeprowadzany jest w temp. pokojowej w **pozycji pionowej**. Jeśli transport nie jest możliwy pobrany materiał w kierunku *Influenza*/RSV/CoV2 przechowywać w lodówce w temp. 2-8°C, natomiast w przypadku badania w kierunku *Pneumocystis jiroveci* w temp. -20°C. Czas przechowywania podłoży w lodówce z pobranym materiałem w kierunku wirusa grypy wynosi max. do 48 godzin.

Metodyka pobierania i transportowania popłuczyn z nosa:
Badanie w kierunku: RNA *Influenza/RSV*

Przygotowanie do badania: Przed pobraniem materiału w kierunku detekcji RNA wirusa grypy pobrać z Apteki Szpitalnej zestaw – wymazówkę jedwabną z odpowiednim podłożem transportowym.

Pobranie:

a. Materiał pobrać w pozycji siedzącej. Lekko odchylić głowę pacjenta do tyłu. Zaleca się aby pacjent miał zamknięte gardło poprzez wymawianie litery „K" podczas pobierania popłuczyn.
b. W trakcie wymawiania litery "K" za pomocą roztworu soli fizjologicznej przepłukać pacjentowi nozdrza. Przy użyciu pipety wlewać do jednego nozdrza jednorazowo 1-1,5 ml płynu płuczącego (soli fizjologicznej).
c. Następnie przechylić głowę pacjenta do przodu, tak aby popłuczyny wylały się na zewnątrz, do jałowego pojemnika np. pojemnika na mocz.
d. Analogicznie wykonać pobranie dla nozdrza drugiego. Czynność tą powtórzyć raz jeszcze dla obu nozdrzy.

Transport: Pobrany materiał przetransportować bezpośrednio do pracowni lub pobrać przed badaniem Apteki Szpitalnej podłoże transportowe. Nanieść do niego 300 ul pobranego materiału. Transport podłoża z pobranym materiałem przeprowadzany jest w temp. pokojowej. Jeśli bezpośrednio po pobraniu transport pobranej próbki na podłożu transportowym nie jest możliwy można przechować podłoże z pobranym materiałem w temperaturze 2-8° C. Czas przechowywania podłoża w lodówce z pobranym materiałem wynosi maksymalnie 48 godziny.

Metodyka pobierania i transportowania wymazu z gardła:
Badanie w kierunku: DNA *Pneumocystis jiroveci*

Przygotowanie: W przypadku detekcji DNA *Pneumocystis jiroveci* zalecane jest zastosowanie wymazówki firmy Copan oraz jałowego pojemniczka z solą fizjologiczną (nie więcej niż 5-10 ml soli fizjologicznej).

Pobranie:

a. Pacjent powinien przepłukać jamę ustną przegotowaną wodą.
b. Materiał pobrać przy pomocy jałowej wymazówki.
c. Używając jałowej szpatułki, docisnąć język ku dołowi, co pozwoli uniknąć kontaminacji wymazu z śliną.
d. Pobierać materiał ze zmienionych zapalnie lub pokrytych wydzieliną okolic tylnej ściany gardła, podniebienia lub migdałków, mocno naciskając wacik lub wykonując nim ruch obrotowy.
e. Z krypt migdałkowych pobrać próbkę starając się ostrożnie wkręcić koniec wacika w głąb.
f. Starać się nie dotykać zdrowo wyglądających śluzówek i śliny.
g. Unikać dotknięcia języka i języczka podniebiennego.
h. Wacik natychmiast umieścić w pojemniczku z solą fizjologiczną.

Transport: Pobraną próbkę materiału opisać i bezpośrednio po pobraniu materiał transportować do pracowni. Transport materiału przeprowadzany jest w temp. pokojowej. Jeśli transport nie jest możliwy bezpośrednio po pobraniu materiał przechowywać w temperaturze -20°C.

Metodyka pobierania i transportowania plwociny:
Badanie w kierunku: DNA *Mycobacterium tuberculosis*

Pobranie:

a. Pobrać w godzinach rannych bezpośrednio po przebudzeniu (największa wartość diagnostyczna).
b. Przed wykrztuszeniem przepłukać jamę ustną przegotowaną wodą, umyć zęby, ewentualnie wyjąć protezę zębową.
c. Plwocinę wykrztusić do specjalnego jałowego naczynia z szerokim otworem.
d. Objętość plwociny ok.1-3 ml - charakter śluzowo-ropny, ropno-krwawy, lub ropny.
e. Naczynie natychmiast zamknąć, nie dotykając jego brzegu i wewnętrznej powierzchni zakrętki.
f. Jeśli chory ma trudności z odkrztuszeniem plwociny, można pobudzić jej produkcję poprzez fizjoterapię klatki piersiowej, drenaż ułożeniowy, nawadnianie, środki mukolityczne lub inhalację ciepłego, hipertonicznego aerozolu z 10% solą kuchenną.

Transport: Pobraną próbkę materiału opisać i bezpośrednio po pobraniu materiał transportować do Pracowni. Transport podłoża przeprowadzany jest w temp. pokojowej. Jeśli transport nie jest możliwy pobrany materiał przechowywać w temperaturze -20°C.

Metodyka pobierania i transportowania BAL-u:
Badanie w kierunku: RNA Influenza A/B/ AH1N1, DNA *Pneumocyctis jiroveci*, antygen galaktomannanowy *Aspergillus*, DNA *Mycobacterium tuberculosis.*

Przygotowanie do badania: Przed pobraniem materiału w kierunku detekcji RNA wirusa grypy pobrać z Apteki Szpitalnej zestaw - wymazówkę z odpowiednim podłożem transportowym.

Pobranie:

a. Pobieranie materiału z wykorzystaniem technik inwazyjnych: bronchoskopia, aspirat śródtchawiczy, płukanie oskrzelowo-pęcherzykowe (BAL), biopsja szczoteczkowa., powinno być wykonywane wyłącznie u chorych, u których nie jest możliwe uzyskanie plwociny drogą odkrztuszania, bądź w przypadku utrzymywania się lub narastania objawów, mimo leczenia celowanego.
b. Pobrany materiał w ilości 1-5 ml jałowo wprowadzić do jałowej probówki.
c. Probówkę zamknąć szczelnie plastikowym korkiem.

Transport: Pobraną próbkę materiału opisać i bezpośrednio po pobraniu materiał transportować do pracowni. Transport przeprowadzany jest w temp. pokojowej. Jeśli transport nie jest możliwy bezpośrednio po pobraniu, w przypadku wirusa Influenza należy przenieść 300 ul pobranego materiału do podłoża transportowego. Podłoże to można przechowywać w lodówce w temp. 2-8° C max. do 24 godzin. Natomiast w przypadku DNA *Pneumocystis jiroveci*, antygenu glaktomannanowego *Aspergillus*, DNA Mycobacterium *tuberculosis* pobrany BAL można przechowywać w zamrażalniku w temp. -20°C.

Metodyka pobierania i transportowania płynu z opłucnej
Badanie w kierunku: DNA *Mycobacterium tuberculosis*

Pobranie:

a. Materiał pobiera się za pomocą punkcji.
b. Starannie zdezynfekować skórę w miejscu wkłucia preparatem ustalonym przez Zespół d.s. Zakażeń Szpitalnych (uwzględnić czas ekspozycji środka na skórę).
c. Umyć i zdezynfekować ręce, stosować jałowe rękawiczki ochronne.
d. Pobrać około 5 ml punktatu do jałowego pojemniczka.
e. Próbkę należy po pobraniu dostarczyć natychmiast do laboratorium.

Transport: Pobraną próbkę materiału opisać i bezpośrednio po pobraniu materiał transportować do Pracowni. Transport podłoża przeprowadzany jest w temp. pokojowej. Jeśli transport nie jest możliwy pobrany materiał przechowywać w temperaturze -20°C.

1.4. Pobieranie materiału z dróg moczowo-płciowych

Metodyka pobierania i transportowania moczu:
Badanie w kierunku: DNA *Mycobacterium tuberculosis*

Pobranie:

Metodyka pobierania moczu do badań drogą środkowego strumienia u mężczyzn:

a. Do badania należy pobrać **mocz poranny** (mocz w pęcherzu moczowym powinien przebywać minimum 4-6 godzin).
b. Umyć ręce wodą i mydłem, wysuszyć jednorazowym ręcznikiem.
c. Całkowicie ściągnąć napletek i umyć żołądź prącia wodą z mydłem.
d. Odrzucić pierwszy strumień moczu, a następnie, nie przerywając strumienia pobrać **ok. 50 ml** moczu bezpośrednio do jałowego pojemnika.
e. Nie wolno dotykać brzegów i wewnętrznej powierzchni naczynia oraz nakrętki.

Metodyka pobierania moczu do badań drogą środkowego strumienia u kobiet:

a. Do badania należy pobrać **mocz poranny** (mocz w pęcherzu moczowym powinien przebywać minimum 4-6 godzin).
b. Umyć ręce wodą i mydłem, wysuszyć jednorazowym ręcznikiem.
c. Wodą z mydłem umyć dokładnie krocze. Starannie umyć srom, po rozchyleniu warg sromowych – przemywać tamponami od przodu do tyłu (można skorzystać z prysznica).
d. Odrzucić pierwszy strumień moczu, a następnie, nie przerywając strumienia pobrać ok. **50 ml** moczu bezpośrednio do jałowego naczynia.
e. Nie wolno dotykać brzegów i wewnętrznej powierzchni naczynia oraz nakrętki.

Metodyka pobierania moczu do badań innymi metodami niż ze środkowego strumienia:

a. <u>Cewnikowanie</u> – powinno się używać jednorazowego cewnika, wcześniej chory powinien wypić wystarczającą ilość płynu. Po odpowiednim ułożeniu chorego starannie myje się okolicę krocza i narządy moczowo - płciowe mydłem i jałową wodą, a następnie wprowadza się cewnik. Pierwszą porcję moczu odrzuca się, a następną zbiera do jałowego pojemnika i przesyła do badania.
b. <u>Cewnikowania długotrwałe</u> – u chorych z cewnikiem założonym na stałe nie wolno pobierać moczu do badania z worka zbierającego mocz. Próbkę moczu można wielokrotnie pobierać przez nakłucie uprzednio starannie zdezynfekowanej, bliższej części cewnika. Nie należy przy tym odłączać rurki odprowadzającej od cewnika.
c. <u>Płukanie pęcherza</u> – z tkwiącego cewnika długotrwałego należy pobrać i opisać jedną próbkę moczu. Następnie wstrzykuje się do pęcherza 50 ml roztworu neomycyny zmieszanego z 2 ampułkami elastazy. Po 30 min. przepłukuje się pęcherz 2 l jałowego płynu i całkowicie go opróżnia. Wreszcie pobiera się 1 próbkę moczu o objętości minimum 10 ml.
d. <u>Cystoskopia i cewnikowanie moczowodów</u> – przygotowanemu choremu (leki znieczulające i rozluźniające) wprowadza się do pęcherza cystoskop, pobiera próbkę moczu pęcherzowego, opisuje i ewentualnie ochładza. Następnie pęcherz przepłukuje się 2-3 litrami jałowego płynu (roztworu fizjologicznego). Po opróżnieniu pęcherza wprowadza się cewnik moczowodowy i podaje 100 ml płynu do płukania. Pobiera się porcję płynu i

dokładnie opisuje. Cewnik wprowadza się dalej i po odrzuceniu pierwszych 5-10 ml moczu, zbiera się następne minimum 10 ml odpowiednio opisuje i przesyła do laboratorium.

e. Cystostomia – należy ostrożnie oczyścić otwór kanału i wprowadzić cewnik. Pobrać mocz i natychmiast odesłać do laboratorium lub schłodzić.

Transport: Pobraną próbkę materiału opisać i bezpośrednio po pobraniu materiał transportować do Pracowni. Transport przeprowadzany jest w temp. pokojowej. Jeśli transport moczu nie jest możliwy bezpośrednio po pobraniu materiał zamrozić i przechowywać w temp. -20°C.

Metodyka pobierania i transportowania wymazów z dróg moczowo-płciowych:
Badanie w kierunku: DNA wirusa HPV, DNA *Neisseria gonorrhoeae*, DNA *Chlamydia trachomatis*

Przygotowanie: Przed pobraniem materiału w kierunku detekcji DNA wirusa HPV lub DNA *Chlamydia/Neisseria* należy pobrać z pracowni genetycznej zestaw z odpowiednim podłożem transportowym.

Pobieranie wymazu z cewki moczowej:

a. Pacjent/ka nie powinien oddawać moczu co najmniej 3 h przed badaniem.
b. Należy oczyścić zewnętrzne ujście cewki moczowej za pomocą wody jałowej i sterylnego gazika.
c. Umieścić wymazówkę w cewce moczowej na głębokość 2-4 cm.
d. Wykonać około 10 ruchów rotacyjnych (pobór nabłonków) i wyjąć delikatnie wymazówkę.
e. Wymazówkę umieścić w odpowiednim podłożu transportowym.

Pobieranie wymazu z kanału szyjki macicy:

a. Materiał pobieramy za pomocą szczoteczki (Dacron Cytobrush).
b. Umieścić wziernik ginekologiczny w pochwie i zlokalizować szyjkę macicy.
c. Dokładnie oczyścić kanał szyjki ze śluzu peanem z jałowym gazikiem i/lub zwykłą bawełnianą wymazówką.
d. Umieścić szczoteczkę lub wymazówkę w kanale szyjki i wykonując kilka ruchów rotacyjnych jednocześnie pocierając pobrać materiał do badania.
e. Wyjmując szczoteczkę nie wolno dotykać ścianek pochwy.
f. Szczoteczkę umieścić w odpowiednim podłożu transportowym.

Transport: Pobraną próbkę materiału opisać i bezpośrednio po pobraniu materiał transportować do Pracowni. Transport podłoża przeprowadzany jest w temp. pokojowej. Jeśli transport nie jest możliwy pobrany materiał przechowywać w temperaturze -20C.

1.5. Metodyka pobierania i transportowania próbek kału

Badanie w kierunku: toksynaA/B *Clostridium difficile*

Pobranie:

a. Kał należy oddać do czystego, suchego, jałowego pojemnika. Pacjent przed badaniem powinien całkowicie opróżnić pęcherz.
b. Z kału należy pobrać za pomocą jałowej szpatułki grudkę wielkości orzecha laskowego i umieścić ją w jałowym pojemniku. Przy płynnym stolcu pobieramy objętość 1 – 2 ml.
c. Jeżeli w kale jest obecna krew, ropa lub śluz powinny one znaleźć się w pobranej próbce.

Transport: Pobraną próbkę należy dostarczyć bezpośrednio po pobraniu do laboratorium. Transport przeprowadzany jest w temp. pokojowej. Jeśli transport nie jest możliwy bezpośrednio po pobraniu materiał należy zamrozić i przechowywać w temperaturze -20°C do czasu wykonania badania.

1.6. Pobieranie węzłów chłonnych i/lub wycinka śledziony

Badanie w kierunku: antygenów zgodności tkankowej HLA dawcy

Przygotowanie do badania: Przed pobraniem materiału pobrać z pracowni HLA podłoże Hanksa.

Pobieranie:

a. Odkazić i miejscowo znieczulić przed pobraniem miejsce pobrania.
b. Pobrać: min. 5-6 węzłów pachwinowych i/lub wycinek śledziony o wielkości min. 3cmx3cm.
c. Umieścić w jałowym pojemniczku z solą fizjologiczną lub płynem Hanksa.

Transport: Pobraną próbkę materiału opisać i bezpośrednio po pobraniu materiał transportować do Pracowni. Transport podłoża przeprowadzany jest w temp. pokojowej. Jeśli transport nie jest możliwy pobrany materiał przechowywać w temperaturze 2-8°C.

CZĘŚĆ III. PRACOWNIA MIKROBIOLOGICZNA

OGÓLNE ZASADY POSTĘPOWANIA PRZY POBIERANIU I PRZESYŁANIU PRÓBEK DO PRACOWNI MIKROBIOLOGICZNEJ

Ogólne zasady, których należy przestrzegać przy pobieraniu i przesyłaniu materiałów do badania mikrobiologicznego:

I Czas pobierania:

- próbki pobierać przed rozpoczęciem leczenia antybiotykami, jeżeli przeprowadzamy badanie kontrolne po leczeniu, należy je wykonać co najmniej po trzech dniach od zakończenia podawania antybiotyku;
- w razie konieczności przeprowadzenia badania bakteriologicznego u pacjentów, którzy wcześniej otrzymali antybiotyk, należy bezwzględnie napisać na skierowaniu, jaki lek chory otrzymuje i jak długo go stosuje.

II Miejsce pobrania:

- skórę w miejscu wkłucia przy pobieraniu krwi, płynu mózgowo-rdzeniowego i płynów z jam ciała należy starannie odkazić odpowiednim preparatem;
- błony śluzowe przetrzeć jałowym wacikiem zwilżonym jałowym roztworem soli fizjologicznej.

III Objętość próbki:

- przy płynach (krew, mocz, żółć, ropa i inne płyny z jam ciała) wystarczy około 5-10ml;
- liczba drobnoustrojów w przypadku pobierania wymazów jest niska, dlatego wymazy należy pobierać tylko wtedy, kiedy nie można uzyskać nawet niewielkiej ilości wydzieliny lub materiał musi być pobrany na podłoże transportowe;
- do badań w kierunku bakterii beztlenowych najmniej odpowiednim materiałem jest wymaz. Optymalne materiały to: jałowo pobrana ropa, płyny lub tkanki, umieszczone w jałowych pojemnikach transportowych.

IV Pobieranie:

- próbka powinna być reprezentatywna dla procesu chorobowego. Sposób pobrania materiału jest uzależniony od kierunku badania i lokalizacji zmian chorobowo zmienionych;
- należy ograniczyć zanieczyszczenie próbki florą przypadkową ;
- materiał należy pobrać przy użyciu jałowego i odpowiedniego sprzętu;
- materiał powinien być pobrany przez wyszkolony personel (pielęgniarka, ratownik medyczny, położna, lekarz, diagnosta laboratoryjny);
- jeżeli materiał pobiera sam chory (plwocina, mocz, kał), należy mu dostarczyć instrukcję dotyczącą prawidłowego pobrania materiału.

V Przesyłanie materiałów do Pracowni Mikrobiologicznej

- pobrane materiały do badań mikrobiologicznych należy jak najszybciej dostarczyć do Pracowni Mikrobiologicznej;
- materiał powinien znajdować się w szczelnie zamkniętym pojemniku, odpowiednio opisanym: nazwisko i imię chorego, rodzaj materiału;
- materiał w czasie transportu powinien być zabezpieczony przed uszkodzeniem i zmianami temperatury;
- warunki transportu powinny uwzględniać specyfikę postępowania w zależności od rodzaju próbki oraz kierunku badania:
  - ✓ mocz, plwocina muszą być przechowywane w stanie schłodzonym;
  - ✓ płynu mózgowo-rdzeniowego i innych płynów z jam ciała nie wolno schładzać;
  - ✓ materiały pobrane na podłoża transportowe – w temperaturze pokojowej;
  - ✓ krew pobrana na podłoża bulionowe - przechowywać w temperaturze pokojowej.
- do każdej próbki materiału należy dołączyć **skierowanie na badanie mikrobiologiczne** (Załącznik nr 1). Skierowanie powinno zawierać:
  - ✓ nazwisko i imię pacjenta;
  - ✓ PESEL;
  - ✓ rodzaj materiału ;
  - ✓ kierunek badania mikrobiologicznego;
  - ✓ rozpoznanie kliniczne;
  - ✓ data i godzina pobrania materiału;
  - ✓ data i godzina dostarczenia materiału do laboratorium;
  - ✓ stosowane antybiotyki;
  - ✓ podpis i pieczątka lekarza zlecającego badanie;
  - ✓ adres, telefon oddziału/szpitala;
  - ✓ inne informacje mające związek z chorobą lub pobraniem materiału.

POBIERANIE MOCZU DO BADANIA MIKROBIOLOGICZNEGO

I Materiał:

W przypadku podejrzenia infekcji dróg moczowych materiałem do badania jest:

- mocz

II Metody pobierania:

Pierwsza Mikcja - naturalne oddany moczu (środkowy strumień) powinien być pobrany do jałowego pojemnika. Mocz powinien być oddany po przerwie nocnej (powinien przebywać w pęcherzu ok. 4-6 godzin).

Pobranie moczu u mężczyzny lub chłopca

- umyć ręce wodą i mydłem, wysuszyć jednorazowym ręcznikiem;
- całkowicie ściągnąć napletek i umyć żołądź prącia wodą z mydłem;

- oddać ok. połowy zawartości moczu w pęcherzu do toalety, a następnie, nie przerywając strumienia pobrać ok. 5 ml do jałowego pojemnika;
- nie wolno dotykać brzegów i wewnętrznej powierzchni naczynia oraz nakrętki;
- pojemnik natychmiast zamknąć, próbkę opisać (imię, nazwisko, oddział) i jak najszybciej dostarczyć do Laboratorium lub wstawić do lodówki (na maksymalnie 2 godziny)

Jeżeli materiał nie może być dostarczony do laboratorium w ciągu 2 godzin, mocz należy pobrać na podłoże typu Uromedium (patrz punkt 1a).

Pobieranie moczu u kobiety lub dziewczynki

- umyć ręce wodą i mydłem, osuszyć jednorazowym ręcznikiem.
- wodą z mydłem umyć dokładnie krocze. Starannie umyć srom, po rozchyleniu warg sromowych przemywać gazikami od przodu do tyłu (można skorzystać z prysznica);
- oddać ok. połowę zawartości moczu do toalety, a następnie nie przerywając strumienia pobrać ok. 5 ml moczu bezpośrednio do jałowego pojemnika;
- nie wolno dotykać brzegów i wewnętrznej powierzchni naczynia oraz nakrętki;
- pojemnik natychmiast zamknąć , próbkę opisać (imię, nazwisko, oddział) i jak najszybciej dostarczyć do laboratorium lub wstawić do lodówki (na maksymalnie 2 godziny).

Jeżeli materiał nie może być dostarczony do laboratorium w ciągu 2 godzin, mocz należy pobrać na podłoże typu Uromedium (patrz punkt 1a).

1. Metoda zanurzeniowa (podłoże transportowo-wzrostowe)

Jeżeli materiał nie może być dostarczony do laboratorium w ciągu 2 godzin, mocz należy pobrać na podłoże typu Uromedium;

- przygotować pacjenta i pojemnik jak w metodzie klasycznej (punkt 1);
- uzyskany mocz posiać na podłoże typu Uromedium według zaleceń producenta;
- Zasady ogólne: mocz do badania można nanieść na gotowe podłoże transportowo-wzrostowe typu Uromedium przez zanurzenie płytki z podłożem w moczu oddanym do jałowego pojemnika lub poprzez zwilżenie płytki bezpośrednio podczas oddawania moczu . Mocz pobrany na podłoże transportowo-wzrostowe typu Uromedium można przechowywać w temperaturze pokojowej lub w cieplarce (35°C) do 24 godzin;
- dostarczyć do Pracowni Mikrobiologicznej.

2a. Cewnikowanie pęcherza moczowego

- metodę stosować tylko w przypadku niemożności oddania przez pacjenta moczu poprzez mikcję;
- przygotować pacjenta i pojemnik jak w metodzie klasycznej (punkt 1);
- założyć cewnik;
- po odrzuceniu pierwszej porcji moczu pobrać z cewnika 5-10 ml moczu do jałowego pojemnika.

2b. Cewnikowanie długotrwałe

- pobrać mocz ze świeżo założonego cewnika;
- nie wolno pobierać moczu do badania z worka zbierającego mocz;
- próbkę można ewentualnie pobierać przez nakłucie uprzednio starannie zdezynfekowanej, bliższej części cewnika. Nie należy przy tym odłączać rurki odprowadzającej od cewnika.

3. Nakłucie nadłonowe

- prawidłowo wykonana punkcja jest możliwa tylko przy całkowicie wypełnionym pęcherzu;
- metoda powinna być stosowana tylko w wyjątkowych przypadkach;
- starannie zdezynfekować skórę w miejscu wkłucia odpowiednim preparatem dezynfekcyjnym;
- umyć i zdezynfekować ręce, stosować jałowe rękawiczki ochronne;
- jałową strzykawką pobrać 5-10 ml moczu przez nakłucie powłok brzusznych.

4. Pobieranie moczu u małych dzieci

- rozebrać dziecko od pasa w dół (najlepiej rano, po karmieniu);
- osoba pobierająca mocz musi dokładnie umyć ręce wodą i mydłem, osuszyć je jednorazowym ręcznikiem;
- rozchylić nóżki dziecka, dokładnie umyć okolice cewki moczowej, sromu i odbytu, także fałdy skórne czterokrotnie zmienianymi gazikami. Osuszyć jednorazowym ręcznikiem, od przodu do tyłu;
- opłukać kilkakrotnie okolice cewki świeżo przegotowaną wodą , zawsze od przodu do tyłu;
- jeżeli to możliwe, postarać się, żeby dziecko oddało mocz bezpośrednio do jałowego pojemnika, odrzucając pierwszą , niewielką porcję moczu.

5. Pobieranie moczu u niemowląt

- rozebrać dziecko od pasa w dół;
- wykonać zabiegi higieniczne jak w punkcie 4;
- unieść niemowlę w górę i masować mięśnie grzbietu, od góry do dołu. Z chwilą rozpoczęcia oddawania moczu podstawić przygotowany jałowy pojemnik, odrzucając pierwszą, niewielką porcję moczu;
- Pobrać ok. 3-5 ml.

lub

- rozebrać dziecko od pasa w dół;
- wykonać zabiegi higieniczne jak w punkcie 4;
- przykleić jałowy woreczek, nie dotykając jego brzegów;
- obserwować dziecko i natychmiast po oddaniu przez nie moczu, odkleić woreczek;
- próbkę dostarczyć do Laboratorium w ciągu 2 godzin od pobrania.

POBIERANIA MATERIAŁÓW DO BADAŃ MIKROBIOLOGICZNYCH W ZAKAŻENIACH PRZEWODU POKARMOWEGO

I Materiał

W zakażeniach przewodu pokarmowego (np. o etiologii *Salmonella, Shigella,Yersinia, Campylobacter*) można pobierać następujące materiały:

- kał;
- wymaz z odbytu;
- żółć;
- treść dwunastnicza;
- krew (dur brzuszny i paradury).

II Metody pobierania

1. Kał

- w warunkach szpitalnych kał powinien by oddany do wyjałowionego basenu, u dzieci - do pieluchy.

Ze świeżo oddanego kału, szpatułką przytwierdzoną do pokrywki pojemnika transportowego, należy pobrać grudkę wielkości ziarna grochu lub 2-3 ml płynnego kału z ropą, krwią lub śluzem.

2. Wymaz z odbytu

- dopuszczalne tylko wtedy, gdy nie udaje się uzyskać próbek kału i w przypadku badania w kierunku *Salmonella- Shigella;*
- wprowadzić do odbytnicy, poza zwieracz zewnętrzny, jałową wymazówkę i wielokrotnie nią obracając pobrać materiał. Na wymazówce musi być wyraźnie widoczny kał. Wymazówkę umieścić w podłożu transportowym.

3. Żółć

Materiał pobrany sondą umieścić w jałowym pojemniku.

III Przesyłanie materiałów do laboratorium

Kał lub wymaz z odbytu, żółć w jałowym pojemniku transportowym powinny być dostarczone do laboratorium w ciągu 2-3 godzin. Jeżeli próbki nie mogą być w tym czasie dostarczone , powinny być umieszczone w podłożu transportowym. Kał pobrany do jałowego pojemnika do czasu dostarczenia do laboratorium należy przechowywać w lodówce.

POBIERANIE KRWI NA POSIEW

I Materiał:

W przypadku podejrzenia zakażenia łoża naczyniowego materiałem do badań jest:

- Krew

II Czas pobierania

- jeżeli to możliwe, krew pobrać przed rozpoczęciem antybiotykoterapii;
- w sytuacji, kiedy można przewidzieć czas pojawienia się gorączki, optymalny moment na pobranie to 30 minut przed szczytem gorączki;
- jeżeli trudno uchwycić ten moment, krew należy pobrać w zależności od aktualnej sytuacji klinicznej.

III Wskazania do pobrania krwi na posiew

- optymalnie należy pobierać jednoczasowo dwa-trzy zestawy (4-6 butelek);
- krew najlepiej pobrać z żyły jeden raz i z dostępnych linii naczyniowych centralnych lub tętniczych;
- pobranie tylko jednego posiewu krwi znacząco zmniejsza czułość badania (o ok. 40%) i stwarza trudność w różnicowaniu kontaminacji od zakażenia w przypadku dodatniego badania, w którym zidentyfikowano gronkowca koagulazo-ujemnego.

Podejrzenie sepsy szpitalnej

- pobrać dwa-trzy posiewy krwi (4-6 butelek).

Gorączka szpitalna

- pobrać dwa-trzy posiewy krwi u pacjentów:
  - ✓ hospitalizowanych w Oddziale Intensywnej Terapii;
  - ✓ u których założona jest linia naczyniowa centralna;
  - ✓ gdy występuje gorączka u pacjenta z reakcją uboczną na cewnik naczyniowy;
  - ✓ obraz kliniczny SIRS;
  - ✓ niedobór odporności;
  - ✓ pogorszenie stanu ogólnego pacjenta z gorączką;
  - ✓ gorączka u pacjenta z cewnikiem do pęcherza moczowego i trudnościami w kontakcie słownym.

Podejrzenie infekcyjnego zapalenia wsierdzia (IZW)

- w przewlekłym lub podostrym: IZW
  - ✓ 3 posiewy krwi w odstępach ok. 6 godzin.
- w ostrym IZW :
  - ✓ 3 posiewy krwi w odstępie nie większym niż godzina, tak aby nie opóźniać podania antybiotyku.
- podejrzenie IZW u pacjenta otrzymującego antybiotyk :
  - ✓ jeżeli stan pacjenta jest stabilny, należy rozważyć odstawienie antybiotyku i pobranie trzech posiewów krwi.

Gorączka nieznanego pochodzenia

- pobrać 3-4 posiewy krwi w ciągu 24 godzin, w razie potrzeby powtórzyć w ciągu dwóch kolejnych dni.

Zapalenie płuc u dorosłych

- 2-3 posiewy krwi pobierać w następujących przypadkach:
  - ✓ ciężkie zakażenia, wymagające przyjęcia do OAiIT;
  - ✓ aspalenia, wysięk opłucnowy, zakażenie przebiegające z wytworzeniem jamy, alkoholizm, neutropenia, ciężkie przewlekłe schorzenie wątroby.

Zapalenie płuc u dzieci

- 2-3 posiewy powinny być pobrane u dzieci przyjmowanych do szpitala, u których podejrzewane jest bakteryjne zapalenie płuc o przebiegu umiarkowanym lub ciężkim.

Zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych

- pobrać niezwłocznie 2-3 posiewy krwi, nie opóźniając przy tym zastosowania antybiotyku.

Sposób pobierania

Pobieranie krwi na posiew wymaga zachowania zasad aseptyki, nie tylko ze względu na bezpieczeństwo personelu, ale też aby uniknąć kontaminacji próbki, co często doprowadza do fałszywie dodatnich posiewów.

Do posiewów krwi służą trzy rodzaje podłoży w butelkach:

- BacT/ALERT **FA** Plus - podłoże do hodowli bakterii tlenowych i grzybów;
- BacT/ALERT **FN** Plus – podłoże do hodowli bakterii beztlenowych;
- BacT/ALERT **PF** Plus – podłoże pediatryczne do hodowli bakterii tlenowych i grzybów.

  - ➢ dla osoby dorosłej komplet podłoży do posiewu krwi stanowią 2 butelki: BacT/ALERT FA Plus iBacT/ALERT FN Plus;
  - ➢ dla dziecka – 1 butelka BacT/ALERT PF Plus.

Sposób pobierania krwi na posiew:

- wypełnić skierowanie na badanie mikrobiologiczne;
- opisać butelki z podłożami na posiew krwi:
  - ✓ imię i nazwisko pacjenta;
  - ✓ oddział;
  - ✓ data i godzina pobrania;
  - ✓ skąd pobrano krew (żyła, tętnica, cewnik naczyniowy):
    - o nie należy dokonywać wpisów na kodzie paskowym butelki;
    - o nie oklejać butelek plastrem, taśmą klejącą;
    - o nie oklejać korków butelek plastrem;
- przygotować podłoża do pobrania krwi:

- ✓ odbezpieczyć plastikową osłonkę z butelki;
- ✓ przetrzeć korek odpowiednim środkiem odkażającym (korek pod osłonką nie jest jałowy).

- umyć i zdezynfekować ręce;
- założyć opaskę uciskową;
- założyć sterylne rękawiczki;
- oczyścić skórę jałowym gazikiem, nasączonym odpowiednim środkiem odkażającym, który jest stosowany w szpitalu;
- odczekać do wyschnięcia środka odkażającego;
- pobrać odpowiednią ilość krwi (od dorosłych: 2 x 5 – 10 ml, od dzieci 1x 1- 5 ml krwi);
- ucisnąć sterylnym gazikiem miejsce wkłucia ;
- pobraną krew wprowadzić do butelek z podłożami:
  - ✓ sprawdzić czy na gumowym korku butelki nie pozostał środek odkażający, w razie potrzeby nadmiar usunąć jałowym gazikiem;
  - ✓ wstrzyknąć krew do butelki przez nakłucie gumowego korka, nie zmieniając uprzednio igły;
  - ✓ jeżeli pobieramy krew strzykawką, krew najpierw wstrzykujemy do butelki FN Plus (podłoże dla bakterii beztlenowych), następnie do butelki FA Plus (podłoże dla bakterii tlenowych i grzybów);
  - ✓ jeżeli pobieramy krew tzw. zestawem motylkowym, krew najpierw wstrzykujemy do butelki FA Plus (podłoże dla bakterii tlenowych i grzybów), następnie do butelki FN Plus (podłoże dla bakterii beztlenowych);
  - ✓ u dorosłych:
    do podłoża BacT/ALERT FA Plus - 5-10 ml krwi
    do podłoża BacT/ALERT FN Plus - 5-10 ml krwi
  - ✓ u dzieci:
    do podłoża BacT/ALERT PF Plus - 1-5 ml krwi
  - ✓ u dzieci z bardzo niską wagą urodzeniową wystarczy 0,5 ml krwi
- butelki z pobraną krwią należy delikatnie zamieszać, w celu uniknięcia utworzenia skrzepu;
- bezpośrednio po pobraniu butelki z krwią na posiew należy dostarczyć do Pracowni Mikrobiologicznej.

Jeżeli krew została pobrana w godzinach kiedy Laboratorium jest nieczynne, podłoża z pobraną krwią pozostawić (zabezpieczając przed wahaniami temperatury) w wyznaczonym miejscu na Oddziale w temperaturze pokojowej.

POSTĘPOWANIE Z KOŃCÓWKĄ CEWNIKA NACZYNIOWEGO PRZEZNACZONEGO DO BADAŃ MIKROBIOLOGICZNYCH

Posocznica związana z cewnikiem występuje, gdy ten sam drobnoustrój patogenny zostanie zidentyfikowany na końcu cewnika i w krążeniu ogólnoustrojowym, a wzrost organizmów z cewnika jest na tyle duży, iż wskazuje, że to cewnik jest głównym źródłem posocznicy. Niewielki wzrost drobnoustrojów na cewniku mógłby wskazywać, że to inne, odległe miejsce jest źródłem posocznicy, a zajęcie końca cewnika jest wtórne.

Posocznica związana z cewnikiem zwykle objawia się jako niewyjaśniona gorączka u pacjenta z cewnikiem naczyniowym założonym przed 48 h. Często nie ma objawów zakażenia miejscowego lub na skórze w miejscu wprowadzenia cewnika. Rumień w miejscu wprowadzenia cewnika może zwiększyć podejrzenie posocznicy, potwierdzeniem rozpoznania jest natomiast obecność ropy.

Podstawą rozpoznania posocznicy związanej z cewnikiem są badania bakteriologiczne.

I Materiał

W przypadku podejrzenia zakażenia odcewnikowego pobiera się następujące materiały:

- krew;
- końcówka cewnika naczyniowego (jeżeli usunięcie cewnika jest możliwe);
- wymaz z okolicy miejsca wprowadzenia cewnika naczyniowego.

Wskazania do pobrania materiałów w kierunku diagnostyki zakażeń odcewnikowych:

- Nagły wzrost temperatury powyżej 38°C bez widocznych i udowodnionych innych źródeł zakażenia przy założonej linii naczyniowej;
- Występowanie zmian zapalnych w okolicy miejsca wprowadzenia cewnika.

II Metody pobierania

- krew – patrz procedura pobierania krwi na posiew:
  - ✓ pobrać jednoczasowo krew przez cewnik i z odrębnego obwodowego dojścia.
- końcówka cewnika naczyniowego:
  - ✓ umyć i zdezynfekować ręce;
  - ✓ przygotować jałową pęsetę, nożyczki lub skalpel do odcięcia cewnika (lub wenflonu);
  - ✓ założyć jałowe rękawiczki;
  - ✓ po usunięciu cewnika z naczynia krwionośnego należy odciąć jego końcówkę (3-5 cm) jałowym skalpelem z zachowaniem zasad aseptyki i przenieść do jałowego pojemnika;
  - ✓ końcówkę cewnika naczyniowego przesłać natychmiast do badania.
- wymaz z okolicy miejsca wprowadzenia cewnika:
  - ✓ pobrać jałową wymazówką zwilżoną jałową solą fizjologiczną;

W przypadku gdy istnieje konieczność pobrania cewnika naczyniowego poza godzinami pracy Laboratorium - końcówkę cewnika należy umieścić w jałowej probówce, w 2 ml jałowej soli fizjologicznej. Zamknąć szczelnie plastikowym korkiem i umieścić w lodówce w temperaturze 4°C.

POBIERANIE MATERIAŁÓW DO BADAŃ MIKROBIOLOGICZNYCH W ZAKAŻENIACH DOLNYCH DRÓG ODDECHOWYCH

I Materiał

W przypadku podejrzenia zakażenia dolnych dróg oddechowych można pobierać następujące materiały:

- plwocina;
- bronchoaspirat;
- popłuczyny pęcherzykowo-oskrzelowe (BAL);
- materiał pobrany w trakcie biopsji szczoteczkowej (PSB);
- bioptat płuca;
- płyn opłucnowy;
- krew.

II Metody pobierania

- plwocina – optymalnie, aby była pobrana rano, w ilości ok. 3 ml, na czczo po uprzedniej toalecie jamy ustnej i po dokładnym przepłukaniu jej przegotowaną wodą. Pacjent powinien odkrztusić plwocinę do jałowego pojemnika z szerokim otworem. W przypadku trudności z odkrztuszaniem i uzyskaniem odpowiedniej plwociny, należy uprzednio zastosować u pacjenta środki wykrztuśne, nebulizację roztworem soli fizjologicznej oraz fizykoterapię klatki piersiowej (oklepywanie).

U zaintubowanych pacjentów przed każdym pobieraniem materiałów z dolnych dróg oddechowych należy: wykonać toaletę jamy ustnej, przeintubować pacjenta, odessać zalegającą wydzielinę.

- bronchoaspirat - wprowadzić cewnik do odsysania (jałowo) przez rurkę intubacyjną; zaaspirować do jałowego pojemnika wydzielinę oskrzelową;
- popłuczyny pęcherzykowo-oskrzelowe (BAL) - materiał należy pobrać poprzez nowo-założoną rurkę intubacyjną (tracheostomijną), po uprzedniej toalecie jamy ustnej. Należy najpierw odessać zalegającą wydzielinę dróg oddechowych, następnie przepłukać oskrzela 0,9% solą fizjologiczną i po 2-3 krotnym rozprężeniu płuc workiem ABMU pobierać wydzielinę z zachowaniem zasad aseptyki do jałowego pojemnika;
- materiał pobrany w trakcie bronchofiberoskopowej biopsji szczoteczkowej (PSB – protected specimen brush);
- bioptaty płuca – pobrać do jałowego pojemnika;
- płyn opłucnowy - materiał pobrać za pomocą punkcji. Po 5-10 ml punktatu przenieść do podłoża BacT/ALERT FA Plus i BacT/ALERT FN Plus;
- krew - patrz procedura pobierania krwi na posiew.

III Przesyłanie materiałów do laboratorium

Wszystkie materiały powinny być przesłane do Laboratorium natychmiast po pobraniu, nie później niż w ciągu 3 godzin.

Jeżeli jest to niemożliwe, to:

- plwocinę przechowywać i transportować w temperaturze 4°C (lodówka) nie dłużej niż 24 godziny;
- bioptaty płuca przenieść do bulionu THIO-ST, przechowywać (zabezpieczając przed wahaniami temperatury) w wyznaczonym miejscu na oddziale w temperaturze pokojowej;
- materiały pobrane na podłoża BacT/ALERT FA Plus i BacT/ALERT FN Plus przechowywać (zabezpieczając przed wahaniami temperatury) w wyznaczonym miejscu na oddziale w temperaturze pokojowej.

POBIERANIE MATERIAŁÓW DO BADAŃ MIKROBIOLOGICZNYCH W ZAKAŻENIACH GÓRNYCH DRÓG ODDECHOWYCH

I Materiał

W zakażeniach górnych dróg oddechowych można pobierać następujące materiały:

- wymaz z gardła;
- wymaz z nosogardzieli;
- wymaz z nosa;
- wymaz z krtani;
- punktat z zatok.

Metody pobierania

- wymaz z gardła jałową wymazówką , pobrać materiał ze zmienionych zapalnie okolic tylnej ściany gardła, podniebienia lub migdałków. Nie dotykać zdrowo wyglądających śluzówek ani śliny.
- wymaz z nosogardzieli- przy podejrzeniu zakażenia szczepami *Neisseriameningitidis, Haemophilusspp., Bordetellapertusis:*
  - ✓ pobranie przez nos – stosować wymazówkę o elastycznym trzonku;
  - ✓ pobranie przez jamę ustną – gdy nie ma możliwości pobrania przez nos;
  - ✓ przy podejrzeniu krztuśca – konieczna wymazówka z alginianem wapnia lub z dakronem, pobieramy kilkakrotnie śluz z powierzchni nosogardzieli.
- wymaz z nosa – przy użyciu jałowej wymazówki;
- wymaz z krtani – przy użyciu jałowej wymazówki, stosować tylko bakteriologiczne zestawy transportowe. Wymaz pobiera lekarz laryngolog.

Uwagi

Przy podejrzeniu anginy Plauta-Vincenta, błonicy, krztuśca i grzybicy górnych dróg oddechowych wymagane jest pobranie materiału na dodatkową wymazówkę w celu wykonania preparatu barwionego metodą Grama.

III Przesyłanie materiałów do laboratorium

Wymazówki z pobranym materiałem można przesłać w jałowej probówce bez podłoża transportowego, gdy materiał zostanie opracowany w Laboratorium w ciągu 3 godzin od pobrania.

Wymazówki na podłożu transportowym - możliwość przesłania do Laboratorium do 72 godzin od pobrania. Do czasu dostarczenia do laboratorium przechowywać w temperaturze pokojowej.

POBIERANIE MATERIAŁU DO BADAŃ MIKROBIOLOGICZNYCH W ZAKAŻENIACH OKA

I Materiały

W zakażeniach oka można pobierać następujące materiały:

- wymaz ze spojówek;
- wydzielina z oka;
- zeskrobiny z rogówki lub spojówki oka;
- płyn wewnątrzgałkowy.

II Metody pobierania

- materiał należy pobrać przed podaniem leku znieczulającego (może on zawierać środki przeciwdrobnoustrojowe);
- materiał pobrać co najmniej 4 godziny od ostatniego podania do oka kropli z preparatami zawierającymi środki przeciwdrobnoustrojowe;
- przy zmianach skąpo objawowych umieścić w worku spojówkowym jedwabne nici i następnie przenieść je do jałowego pojemnika lub płynnego podłoża THIO-ST;
- zeskrobiny pobrać jałową, plastikową ez , następnie przenieść je do płynnego podłoża THIO-ST;
- płyn wewnątrzgałkowy – pobrać do płynnego podłoża THIO-ST.

III Przesyłanie materiałów do Laboratorium

Materiały w jałowych pojemnikach przesłać do laboratorium w ciągu 3 godzin od pobrania. Jeżeli jest to niemożliwe, umieszczać i przesyłać materiały w podłożach transportowych

POBIERANIE WYMAZU Z UCHA NA BADANIE MIKROBIOLOGICZNE

I Materiały

W zakażeniach ucha zewnętrznego i wewnętrznego można pobierać następujące materiały:

- aspirat;
- wydzielina ropna;
- wymaz z ucha.

II Metody pobierania

- aspirat po nakłuciu błony bębenkowej przenieść do jałowego pojemnika;

- wydzielinę ropną przy pękniętej błonie bębenkowej pobrać na wymazówkę z podłożem transportowym;
- wymazy z przewodu słuchowego zewnętrznego prawego i lewego pobrać na dwie wymazówki. Przed pobraniem, miejsca chorobowo zmienione należy oczyścić jałowym wacikiem zwilżonym solą fizjologiczną. Materiał pobrać za pomocą jałowej wymazówki z podłożem transportowym. Pobrać wymaz z miejsc pokrytych strupem lub wydzieliną. Unikać kontaktu wymazówki ze zdrową skórą przewodu słuchowego. Aspirat i wydzielinę ropną z ucha pobiera lekarz laryngolog.

III Przesyłanie materiałów do laboratorium

Materiały w jałowych pojemnikach przesłać do Laboratorium w ciągu 3 godzin od pobrania. Jeżeli jest to niemożliwe, umieszczać i przesyłać materiały na podłożach transportowych.

POBIERANIE PŁYNU MÓZGOWO-RDZENIOWEGO NA BADANIE MIKROBIOLOGICZNE

I Materiały

W przypadku podejrzenia zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych można pobierać następujące materiały:

- płyn mózgowo-rdzeniowy;
- krew.

Badanie płynu mózgowo-rdzeniowego u pacjentów z podejrzeniem zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych należy do najważniejszych i priorytetowych badań w laboratorium mikrobiologii klinicznej.

II Metody pobierania płynu mózgowo-rdzeniowego

Szczególną uwagę należy zwracać na właściwe wyjałowienie miejsca nakłucia podczas punkcji lędźwiowej, gdyż możliwe jest zanieczyszczenie pobieranego płynu mózgowo-rdzeniowego florą występującą na skórze.

- Należy zdezynfekować ręce przed zabiegiem i zawsze używać jałowych rękawiczek;
- Miejsce nakłucia należy przetrzeć jałowym gazikiem nasączonym odpowiednim środkiem dezynfekującym;
- W zależności od dostępności do Pracowni Mikrobiologicznej różny jest schemat postępowania z pobranym płynem mózgowo-rdzeniowym:
  - ➢ <u>Transport do laboratorium < 2 godzin</u>
    - ✓ płyn mózgowo-rdzeniowy (minimum 1 ml, jeżeli to możliwe 3 – 4 ml) należy pobrać do:
      - jałowej probówki;
      - oraz posiać natychmiast na odpowiednie podłoże: BACT/ALERT FA– 0,5–1 ml.
  - ➢ <u>Transport do laboratorium > 2 godzin</u>
    - ✓ płyn mózgowo-rdzeniowy posiać natychmiast na odpowiednie podłoże: BACT/ALERT FA– 0,5–1 ml.

Na ogół pobierane są 3 próbki PMR , do badań analitycznych, mikrobiologicznych i cytologicznych. Do badań mikrobiologicznych najlepiej przeznaczyć płyn z drugiej probówki.
Próbka zawierająca materiał kliniczny powinna być starannie opisana z uwzględnieniem następujących danych:

- ✓ imię i nazwisko pacjenta;
- ✓ data urodzenia;
- ✓ oddział;
- ✓ rodzaj materiału;
- ✓ data i godzina pobrania materiału.

Infekcje ośrodkowego układu nerwowego często przebiegają z bakteriemią, dlatego do badania bakteriologicznego należy równolegle z płynem mózgowo-rdzeniowym pobrać także krew (patrz procedura pobierania krwi na posiew).

III Przesyłanie materiału do laboratorium

- Pobrany płyn mózgowo-rdzeniowy (PMR) powinien być jak najszybciej dostarczony do Laboratorium. Jego opracowanie powinno się rozpocząć w ciągu pierwszej godziny od pobrania. Probówek z płynem mózgowo-rdzeniowym nie należy wystawiać na działanie promieni słonecznych, wysokiej lub niskiej temperatury. W przypadku opóźnienia transportu PMR do laboratorium materiał należy zabezpieczyć przed ochłodzeniem.

POBIERANIE MATERIAŁÓW DO BADAŃ MIKROBIOLOGICZNYCH W ZAKAŻENIACH SKÓRY, TKANEK MIĘKKICH I RAN

I Materiały

Przy zakażeniach skóry, tkanek miękkich i ran można pobierać następujące materiały:

- Ropa;
- wymaz ze zmian chorobowo zmienionych.

II Metody pobierania

Zmiany powierzchniowe

- okolicę miejsca pobrania oczyścić dokładnie odpowiednimi środkami dezynfekcyjnymi;
- pobrać wymaz jałową wymazówką (w razie konieczności zwilżoną solą fizjologiczną) i umieścić w jałowej probówce lub w podłożu transportowym.

Owrzodzenia pokryte zaschniętą wydzieliną

- obrzeże rany przemyć odpowiednim środkiem dezynfekującym, a następnie skalpelem usunąć zaschniętą warstwę, wprowadzić wymazówkę w głąb zmiany i ruchem obrotowym pobrać materiał z jak najgłębszych warstw. Wymazówkę umieścić w jałowej probówce lub w podłożu transportowym.

Rany rozległe

- okolicę miejsca pobrania oczyścić dokładnie odpowiednimi środkami dezynfekcyjnymi;

- po oczyszczeniu powierzchni rany pobrać materiał jałową wymazówką z dna rany.

Ropnie powierzchowne

- skórę nad ropniem przemyć odpowiednim środkiem dezynfekcyjnym i pozostawić do wyschnięcia, następnie nakłuć ropień, odrzucić pierwszą porcję ropy, a następną pobrać jałową wymazówką lub strzykawką i umieścić materiał w jałowym pojemniku.

Ropnie głębokie

- powierzchnię skóry przemyć odpowiednim środkiem dezynfekcyjnym, otworzyć ropień. Pierwszą porcję ropy należy odrzucić usuwając jałowym gazikiem. Drugą porcję ropy pobrać do strzykawki lub na wymazówkę z podłożem transportowym.

W przypadku pobierania wymazów z ran, wskazane jest używanie dwóch wymazówek, w tym jednej bez podłoża transportowego w celu wykonania preparatu bezpośredniego.

III Przesyłanie materiałów do laboratorium

- wszystkie materiały należy dostarczyć jak najszybciej do laboratorium;
- w przypadku ropnych zmian głębokich pobrany materiał należy tak zabezpieczyć, aby umożliwić wzrost bakterii beztlenowych (podłoże transportowe).

POBIERANIE MATERIAŁÓW DO BADAŃ MIKROBIOLOGICZNYCH W ZAKAŻENIACH DRÓG MOCZOWO – PŁCIOWYCH

I Materiały

W zakażeniach dróg moczowo-płciowych można pobierać następujące materiały:

- nabłonek z cewki moczowej;
- wydzielina z cewki moczowej;
- wymaz ze ścian szyjki macicy;
- wymaz ze ścian lub tylnego sklepienia pochwy;
- wydzielina lub wymaz z okolicy gruczołu Bartholina;
- punktaty;
- wymaz z owrzodzeń;
- aspirat z pęcherzyków, ropni.

II Metody pobierania

- sposób pobrania materiału uzależniony jest od kierunku badania i lokalizacji miejsc zmienionych chorobowo;
- materiał do badań należy pobrać rano, przed oddaniem moczu przez pacjenta lub co najmniej 3 godziny po oddaniu moczu;
- kobiety przed pobraniem nie powinny stosować środków odkażających oraz dopochwowych preparatów leczniczych;

Zmiany na skórze i błonach śluzowych zewnętrznych narządów moczowo-płciowych (pęcherzyki, ropnie, owrzodzenia, strupki)

- aspirat z pęcherzyków, ropni:
  - ✓ odkazić powierzchnię odpowiednim środkiem dezynfekcyjnym lub przemyć jałowym roztworem soli fizjologicznej, pozostawić do wyschnięcia;
  - ✓ nacisnąć ropień, odrzucić pierwszą porcję ropy;
  - ✓ pobrać drogą aspiracji do strzykawki treść z pęcherzyków lub ropni;
  - ✓ przenieść treść do jałowego pojemnika ;
  - ✓ w przypadku małej ilości materiału pobrać sterylną wymazówką i umieścić w podłożu transportowym.
- wymaz z owrzodzeń i strupów
  - ✓ odkazić zmianę odpowiednim środkiem dezynfekcyjnym lub przemyć jałowym roztworem soli fizjologicznej, pozostawić do wyschnięcia;
  - ✓ usunąć wyschniętą warstwę wydzieliny;
  - ✓ pobrać treść z dna owrzodzenia jałowym wacikiem zwilżonym roztworem soli fizjologicznej ;
  - ✓ w przypadku zajęcia okolicznych węzłów chłonnych – pobrać punktaty.

Zapalenie gruczołu Bartholina

- przy obfitej wydzielinie – pobrać aspirat do strzykawki;
- zmiany skąpo objawowe – pobrać wymaz jałową wymazówką.

Stany zapalne pochwy (wydzielina, zmiany w błonie śluzowej)

- przy obfitej wydzielinie – pobrać wymaz ze ścian lub tylnego sklepienia pochwy;
- przy braku wydzieliny – pobrać wymaz z zapalnie zmienionej błony śluzowej;
- w przypadku podejrzenia o rzęsistkowicę należy wykonać preparat w kropli soli fizjologicznej.

Stany zapalne szyjki macicy

- usunąć jałowym, suchym gazikiem wydzielinę i czop śluzowy z ujścia szyjki macicy;
- pobrać wymaz ze ścian szyjki na głębokości ok. 0,5 cm.

Zakażenia cewki moczowej u kobiet

- materiałem do badań jest wydzielina z cewki moczowej
  - ✓ ujście cewki moczowej oczyścić jałowym gazikiem;
  - ✓ ucisnąć lekko cewkę poprzez ściankę przedsionka pochwy i pobrać pojawiającą się wydzielinę.

Zapalenie cewki moczowej u mężczyzn

- materiałem do badań jest wydzielina z cewki moczowej
  - ✓ ściągnąć napletek, odsłonić ujście cewki;
  - ✓ jałowym gazikiem, zwilżonym roztworem soli fizjologicznej oczyścić ujście cewki;
  - ✓ ucisnąć wzdłuż cewki;
  - ✓ pobrać pojawiającą się wydzielinę.

W przypadku podejrzenia zakażenia chlamydiami, mykoplazmami, ureaplazmami

- z kanału szyjki macicy pobiera się nabłonek używając dakronowych szczoteczek (Dacron Cytobrush). Pobrany materiał umieścić w specjalnym podłożu. Podłoże do pobrania z Pracowni Mikrobiologicznej.
  - ✓ usunąć jałowym, suchym gazikiem wydzielinę i czop śluzowy z ujścia szyjki macicy;
  - ✓ wprowadzić dakronową szczoteczkę do kanału szyjki macicy;
  - ✓ ruchem obrotowym zebrać nabłonek kanału szyjki macicy;
  - ✓ pobrany materiał zawiesić w specjalnym podłożu.
- z cewki moczowej pobiera się nabłonek używając dakronowych wymazówek. Pobrany materiał umieścić w specjalnym podłożu. Podłoże do pobrania z Pracowni Mikrobiologicznej. Pacjent/pacjentka nie powinien/powinna oddawać moczu co najmniej 3 godziny przed badaniem:
  - ✓ ucisnąć ujście cewki moczowej po uprzednim przemyciu jałowym roztworem soli fizjologicznej;
  - ✓ usunąć pojawiającą się wydzielinę;
  - ✓ wprowadzić do cewki moczowej dakronową wymazówkę na głębokość ok. 2 cm i obracając zebrać nabłonek;
  - ✓ pobrany materiał zawiesić w specjalnym podłożu.

<u>Zakażenia jamy macicy</u>

- wymaz z szyjki macicy- pobrać jałową wymazówką;
- wyskrobiny z jamy macicy pobrać do jałowego pojemnika.

<u>Zakażenie prostaty, jąder, najądrzy i pęcherzyków nasiennych</u>

- pobrać wydzielinę z cewki, nasienie lub punktaty z ropni zaaspirowane do strzykawki.

POBIERANIE POKARMU Z PIERSI NA BADANIE MIKROBIOLOGICZNE

I Materiał do badań

W przypadku podejrzenia zakażenia gruczołu piersiowego materiałem do badań jest:

- pokarm z piersi;
- ropna wydzielina z gruczołu piersiowego;
- punktat z ropnia piersi.

II Metoda pobieranie

- pokarm z piersi
  - ✓ przemyć brodawki jałowym roztworem soli fizjologicznej;
  - ✓ pokarm z piersi lewej i prawej pobrać do osobnych jałowych pojemników;
  - ✓ pierwszą porcję pokarmu odrzucić, następną pobrać bezpośrednio do jałowego pojemnika.
- ropna wydzielina z gruczołu piersiowego
  - ✓ przemyć brodawkę odpowiednim środkiem dezynfekcyjnym i pozostawić do wyschnięcia;
  - ✓ ucisnąć brodawkę ;

- ✓ odrzucić pierwszą porcję ropy;
- ✓ następną porcję ropy pobrać jałową wymazówką lub strzykawką i umieścić materiał w jałowym pojemniku.

- punktat z ropnia piersi
  - ✓ skórę nad ropniem przemyć odpowiednim środkiem dezynfekcyjnym i pozostawić do wyschnięcia;
  - ✓ nakłuć ropień;
  - ✓ odrzucić pierwszą porcję ropy;
  - ✓ następną porcję ropy pobrać jałową wymazówką lub strzykawką i umieścić materiał w jałowym pojemniku.

III Przesyłanie do Laboratorium

- próbkę opisać;
- wypełnić skierowanie na badanie mikrobiologiczne;
- jak najszybciej dostarczyć do Pracowni Mikrobiologicznej.

POBIERANIE KAŁU W KIERUNKU WYKRYWANIA TOKSYN *Clostridium difficile*

Choroba związana z *Clostridium difficile* (CZCD) to biegunka lub *megacolontoxicum* bez innej ustalonej przyczyny **oraz** spełnienie co najmniej jednego z poniższych kryteriów:

- *Clostridium difficile* w posiewie kału;
- dodatni antygen GDH;
- wykrycie toksyn A, B, binarnej;
- obecność błon rzekomych w obrazie endoskopowym;
- obraz rzekomobłoniastego zapalenia jelita grubego w badaniu histopatologicznym.

I Materiał do badań

W przypadku podejrzenia choroby związanej z *Clostridium difficile* materiałem do badań jest

- kał.

II Metoda pobrania

- pobrać z masy kałowej próbkę w ilości 5-20 ml, w przypadku kału biegunkowego każdą ilość możliwą do przeniesienia do pojemnika (nie więcej niż 1/3 wysokości pojemnika).

III Przesyłanie materiału do laboratorium;

- pojemnik z materiałem szczelnie zamknąć
- pojemnik opisać: imię i nazwisko pacjenta, kierunek badania, data i godzina pobrania;
- wypełnić skierowanie na badanie mikrobiologiczne;
- materiał w ciągu 1 godziny powinien być dostarczony do Pracowni Mikrobiologicznej, wtedy może być przechowywany w temperaturze pokojowej. Jeśli ten czas wydłuży się do 24 godzin, próbkę należy umieścić w temp. 4°C (lodówka).

PROCEDURA POBIERANIA PŁYNU KONSERWUJĄCEGO NERKĘ

I Materiały

W trakcie procedury przeszczepiania nerki:

- płyn konserwujący nerkę.

II Metoda pobierania płynu

- Należy zdezynfekować ręce przed zabiegiem i zawsze używać rękawiczek.

III Przesyłanie materiału do laboratorium

- Wypełnić skierowanie na badanie mikrobiologiczne
- Płyn konserwujący nerkę pobrać na dwa płynne podłoża:
  BacT/ALERT **FA** Plus - podłoże do hodowli bakterii tlenowych i grzybów (5-10 ml);
  BacT/ALERT **FN** Plus – podłoże do hodowli bakterii beztlenowych (5-10 ml).
  - Bezpośrednio po pobraniu dostarczyć do Pracowni Mikrobiologicznej SPSK2.

PROCEDURA POBIERANIA MATERIAŁÓW DO BADAŃ MIKROBIOLOGICZNYCH W ZAKAŻENIACH GRZYBICZYCH

I Materiały

W przypadku podejrzenia zakażeń grzybiczych można pobierać następujące materiały:

<u>Grzybice powierzchniowe</u>

- Włosy;
- Paznokcie;
- Zeskrobiny;
- wymazy z błon śluzowych.

<u>Grzybice układowe</u>

- popłuczyny pęcherzykowo-oskrzelowe;
- płyny z jam ciała;
- ropa;
- wydzielina żołądkowo-jelitowa, żółć, kał;
- wycinki z tkanek;
- mocz;
- plwocina;
- płyn mózgowo-rdzeniowy.

II Metody pobierania

- włosy, paznokcie, skóra- pobrać do jałowej szalki Petriego (szalka do pobrania z Pracowni Mikrobiologicznej);
- zeskrobiny;

- ✓ ze skóry - pobrać z obrzeża zmiany chorobowej;
- ✓ z paznokcia - z miejsc zmienionych chorobowo (z obrzeża zmian).

- z owrzodzenia grzybiczego rogówki - za pomocą jałowej, plastikowej ezy:
  - ✓ przeciągnąć ezę od zewnętrznego do wewnętrznego kąta oka;
  - ✓ ezę włożyć do probówki z bulionem;
  - ✓ probówkę zamknąć szczelnie korkiem;
  - ✓ natychmiast dostarczyć do Pracowni Mikrobiologicznej. Eza i bulion do pobrania z Pracowni Mikrobiologicznej.
- włosy wraz z cebulką włosową pobrać jałową pęsetą;
- popłuczyny oskrzelowo-pęcherzykowe - do jałowego pojemnika;
- płyny ustrojow e- płyn opłucnowy, stawowy, otrzewnowy - do jałowego pojemnika;
- ropa - do jałowego pojemnika;
- wydzielina z wykwitów pęcherzykowych i niewielkiej ilości ropy, wymazy z błon śluzowych – na suche wymazówki. Nie używać podłoży transportowych.
- krew i płyny ustrojowe – na podłoża:
  - ✓ BacT/ALERT FA Plus - podłoże do hodowli bakterii tlenowych i grzybów
- treść żołądkowo-jelitowa, żółć, kał – pobrać do jałowych pojemników przy podejrzeniu grzybicy przewodu pokarmowego;
- tkanki - do jałowych pojemników z jałową solą fizjologiczną;
- mocz – pobieranie i transport jak do badań w kierunku zakażenia bakteryjnego;
- plwocina - rano po wypłukaniu jamy ustnej przegotowaną wodą, do jałowego pojemnika;
- płyn mózgowo-rdzeniowy - 3-5 ml w zakażeniach ośrodkowego układu nerwowego – na podłoża:
  - ✓ BacT/ALERT FA Plus - podłoże do hodowli bakterii tlenowych i grzybów.

POBIERANIE MATERIAŁÓW DO DIAGNOSTYKI MIKROBIOLOGICZNEJ BADAŃ PERSONELU I ŚRODOWISKA SZPITALNEGO

Wskazania do badań: wystąpienie ogniska epidemicznego w szpitalu.
Stałą kontrolą mikrobiologiczną objęte są procesy sterylizacji.

I Badanie w kierunku nosicielstwa *Staphylococcusaureus* MRSA
Materiał do badań: wymaz z przedsionka nosa.
Metoda pobrania: wymaz z przedsionka nosa pobrać jałową wymazówką zwilżoną roztworem soli fizjologicznej.

II Badanie mikrobiologicznej czystości rąk
Materiał do badań: odcisk z wewnętrznej powierzchni dłoni.

Metoda badań: odcisk należy pobrać za pomocą płytki zawierającej podłoże stałe z meniskiem wypukłym (CountTact IRR3). Otwartą płytkę należy przyłożyć do dłoni (najlepiej za pomocą aplikatora) utrzymując czas kontaktu co najmniej 10 sekund.

III Ocena mikrobiologicznej czystości powietrza

Materiał do badań: próbki powietrza pobrane metodą sedymentacyjną.

Metoda pobrania: Przed pobraniem próbek należy zamknąć okna i drzwi badanego pomieszczenia.

Metoda swobodnej sedymentacji: w pięciu różnych miejscach na otwartej przestrzeni należy rozstawić płytki Petriego z podłożem agarowym i pozostawić otwarte przez 30 minut. Po ekspozycji płytki należy zebrać i opisać (podając jedynie nazwę pomieszczenia).

IV Ocena czystości mikrobiologicznej powierzchni

Materiał do badań:

- ✓ odciski (powierzchnie suche);
- ✓ wymazy (powierzchnie wilgotne i/lub trudnodostępne);
- ✓ popłuczyny z badanych powierzchni.

Metoda pobrania: Metodą odcisków pobrać materiał tak, jak z powierzchni rąk. Wymazy należy pobrać wymazówką suchą z miejsc wilgotnych, zwilżoną w soli fizjologicznej z trudnodostępnych miejscach.

Załączniki:

Zał.1 Oświadczenie pracowników o zapoznaniu się z procedurą

Lp.	Treść zmiany	Data wprowadzenia zmiany
1.	**Było: Laboratorium Centralne SPSK2** **Jest: Zakład Diagnostyki Laboratoryjnej**	1.12.2014 r.
2.	Było: Procedury dotyczyły pobierania materiałów biologicznych do badań laboratoryjnych wykonywanych w laboratorium o profilu ogólnym Jest: Dołączono procedury pobierania materiałów biologicznych do badań diagnostycznych w Pracowni Mikrobiologicznej oraz Pracowni Immunologicznej i HLA	31.03.2015 r.
3.	Było: Procedury dotyczyły pobierania materiałów biologicznych do badań diagnostycznych w Pracowni Mikrobiologicznej oraz Pracowni Immunologicznej i HLA Jest: Dołączono procedury pobierania materiałów biologicznych do badań diagnostycznych w Pracowni Cytogenetyki	05.10.2016
4.	Wykreślono procedury pobierania materiałów biologicznych do badań diagnostycznych w Pracowni Cytogenetyki	07.08.2023

ZDL/P/19/2016 **Pobieranie materiału biologicznego do badań diagnostycznych**			
SAMODZIELNY PUBLICZNY SZPITAL KLINICZNY NR 2 PUM w Szczecinie	**SYSTEM ZARZĄDZANIA JAKOŚCIĄ**	Wydanie: 4	Data wydania: **2023-10-16**
		Strona 53 z 53	LA 1.1

OPRACOWAŁ	SPRAWDZIŁ	ZATWIERDZIŁ
KIEROWNIK Pracowni Immunologicznej i HLA *dr hab. n. med. Iwona Wojciechowska-Koszko* KIEROWNIK Pracowni Mikrobiologicznej *mgr Marta Cettler* 13219 mgr KAROLINA TURKIEWICZ DIAGNOSTA LABORATORYJNY specjalista laboratoryjnej diagnostyki medycznej 16-10-2023 **Data i podpis**	**Merytorycznie:** KIEROWNIK Zakładu Diagnostyki Laboratoryjnej *mgr Michał Sławiński* 16-10-2023 **Formalnie:** KIEROWNIK Działu Jakości *mgr Edyta Eliaszewicz* 16-10-2023	DYREKTOR Samodzielnego Publicznego Szpitala Klinicznego Nr 2 PUM w Szczecinie *dr n. zdr. Marcin Sygut* **Data i podpis**

Oświadczenie pracowników o zapoznaniu się z procedurą			
SAMODZIELNY PUBLICZNY SZPITAL KLINICZNY NR 2 PUM w Szczecinie	SYSTEM ZARZĄDZANIA JAKOŚCIĄ	Wydanie: 4	Data wydania: **2023-10-16**
		Strona 1 z 1	LA 1.1

Oświadczam iż zapoznałem się z treścią tego dokumentu, rozumiem jego treść i dostosuję się do jego wymogów:

Lp.	Nazwisko i Imię	Data	Podpis