

POBIERANIE I PRZESYŁANIE MATERIAŁÓW

Ogólne zasady pobierania i przesyłania materiału do badań mikrobiologicznych

Materiał należy pobrać:

- z miejsca zmienionego chorobowo,
- przed rozpoczęciem antybiotykoterapii (wyjątkowo – jeśli pacjent jest w trakcie antybiotykoterapii – przed kolejną dawką leku).

W zależności od rodzaju materiału jest on pobierany:

- do jałowego pojemnika (mocz, kał, płwocina),
- na wymazówkę (zwilżoną jałową solą fizjologiczną przy pobieraniu wymazu z błon śluzowych, skóry, suchych powierzchni),
- na zestaw transportowy ogrzany do temperatury pokojowej (posiew w kierunku beztlenowców),
- na podłoże hodowlane ogrzane do temperatury ciała ludzkiego (krew, płyny).

Pobrano materiał należy opisać podając imię i nazwisko pacjenta, oddział, rodzaj materiału, datę i godzinę jego pobrania. Do każdego materiału należy dołączyć skierowanie, w którym oprócz w. w. informacji należy podać także wstępne rozpoznanie i ewentualne leczenie (stosowane antybiotyki).

Materiał powinien być natychmiast przekazany do laboratorium. Wyjątkami od tej zasady są:

- materiały pobrane na podłoża transportowe – mogą być przechowywane w temperaturze pokojowej 2 – 3 dni (kilka godzin w zakażeniach beztlenowcowych),
- materiały pobrane na podłoża hodowlane – mogą być inkubowane w temperaturze 37°C (jeżeli na oddziale jest ciepłarka); przesyłając materiał do pracowni należy podać czas inkubacji,

mocze – mogą być przechowywane przez 2 – 4 godziny, wyłącznie w temperaturze 4°C.

Wyniki ostateczne wraz z antybiogramem po 3 – 4 dniach.

Badania w kierunku beztlenowców trwają do 10 dni.

Krew

Badanie mikrobiologiczne krwi jest wykonywane w przypadku wystąpienia gorączki z objawami SIRS, zakażeń narządowych lub układowych z towarzyszącym złym stanem ogólnym (zapalenie płuc, ZUM, zakażenie pooperacyjne), zapalenia wsierdza, obecność linii naczyniowej z towarzyszącymi zmianami w miejscu wkłucia i / lub złym stanem ogólnym.

Zasady pobierania krwi

Krew należy pobrać:

- na podłoże hodowlane zabezpieczające wzrost bakterii tlenowych i beztlenowych (dwa oddzielne podłoża lub jedno wspólne) ogrzane do temperatury 37°C,
- najlepiej około 30 min. przed spodziewanym szczytem gorączki,
- w warunkach aseptycznych (jałowe rękawiczki, dezynfekcja miejsca wkłucia),
- u dorosłych 10 – 30 ml, u dzieci 1 – 5 ml,
- z uwzględnieniem stosunku objętości próbki do objętości podłoża 1:5 lub 1:10 (w przypadku podłoża do systemów automatycznych np. BacT/ALERT wg instrukcji producenta)

Krew do badania mikrobiologicznego nie może być pobierana przez cewniki z wyjątkiem diagnostyki zakażenia odcewnikowego. Pobrane próbki należy chronić przed ochłodzeniem.

Liczba pobieranych próbek w zależności od rozpoznania:

- gorączka z objawami SIRS: 2 – 3 próbki pobrane z różnych wkłuć w ciągu 10 min,
- ostre zapalenie wsierdzia: 3 próbki pobrane z różnych wkłuć w ciągu 1 – 2 h,
- podostre zapalenie wsierdzia: 3 próbki pobrane z różnych wkłuć w ciągu doby,
- gorączka o nieustalonej etiologii: 2 – 3 próbki z różnych wkłuć w odstępie 1 h; jeżeli wynik posiewu po 24 h jest ujemny, należy pobrać 2 – 3 nowe próbki,
- podejrzenie zakażenia o etiologii grzybiczej: 3 próbki z różnych wkłuć pobrane co 30 min.; krew pobierana jest także w grzybiczych zakażeniach OUN, dróg oddechowych, moczowych i zakażeniach gałki ocznej.

Diagnostyka zakażenia odcewnikowego

Materiałem do badania jest:

1. końcówka cewnika + 2 próbki krwi pobrane z obwodu cewniki naczyniowe – po usunięciu cewnika przytrzymując koniec jałową pensetą należy odciąć jałowymi nożyczkami końcówkę (ok. 3–5 cm) i umieścić ją w jałowym pojemniku. W przypadku zmian zapalnych w miejscu wkłucia oprócz końcówki cewnika należy także pobrać wymaz z miejsca wkłucia.
2. parzyste próbki krwi: krew pobrana z obwodu + krew pobrana przez cewnik
Próbki krwi należy pobrać w tym samym czasie, opisując ich pochodzenie (cewnik, obwód).

Pobranie krwi do badań serologicznych – należy pobrać ok. 5 ml krwi do plastikowej próbówki (bez antykoagulantów) i przesłać do laboratorium w dodatkowym opakowaniu (pojemniku), zabezpieczającym przez kontaktem próbówki ze środowiskiem zewnętrznym.

Płyny wysiękowe, wydzieliny z drenów

Materiały te należy pobrać:

- bezpośrednio posiewając je na podłoża do tlenowego i beztlenowego posiewu krwi, o ile to możliwe z zachowaniem wskazanej proporcji (objętość próbki do podłoża 1:10 lub 1:20) lub wskazań producenta podłoża,
- do jałowej próbówki w celu wykonania preparatu bezpośredniego.

Płyny punkcyjne pobierać należy z zachowaniem zasad aseptyki, po dokładnej dezynfekcji miejsca wkłucia.

Treść z drenu najlepiej uzyskać przez punkcję układu drenującego w pobliżu wyjścia drenu z powłok ciała. Po zdezynfekowaniu miejsca wkłucia należy pobrać materiał, zmienić igłę i wprowadzić zawartość strzykawki do podłoż wzrostowych i / lub jałowego pojemnika. Wyjątkowo, jeżeli po nakłuciu nie ma możliwości wymiany układu drenującego, materiał można pobrać do jałowego pojemnika rozłączając układ.

OUN

Płyn mózgowo-rdzeniowy (PMR) jest pobierany przez nakłucie lędźwiowe w warunkach aseptycznych:

- co najmniej 1 ml płynu należy jałową igłą wsiać do podłoża hodowlanego (Meningomedium), podłoże do posiewu krwi, a w infekcjach grzybiczych – podłoże

Sabourauda) ogrzanego do 37^oC i możliwie jak najszybciej przetransportować próbkę do laboratorium w warunkach zabezpieczających przez jej schłodzeniem (termos, termo-torba),

- około 1 ml płynu należy pobrać do jałowej próbówki lub pojemnika w celu wykonania preparatu bezpośredniego i szybkich testów w kierunku *H. influenzae*, *N. meningitidis*, *S. pneumoniae*.
- około 3 ml pobranego płynu należy pobrać do próbówki w celu wykonania badań analitycznych.

Infekcje OUN mogą przebiegać z bakteremią (obecność bakterii we krwi), stąd do badania mikrobiologicznego równoległe z PMR należy pobrać krew.

Wydzieliny ropne

Zmiany powierzchniowe – badanie w kierunku bakterii tlenowych

Miejsce pobrania należy przemyć jałową solą fizjologiczną; pobranie zależy od rodzaju wydzieliny:

- wydzielina ropna obfita – pobierana strzykawką do jałowego pojemnika,
- skąpa wydzielina – pobierana na wymazówkę (zaleca się pobranie dwóch wymazów, z których jeden jest przeznaczony do posiewu na podłoża hodowlane a drugi do wykonanie preparatu bezpośredniego).

Zmiany głębokie – badanie w kierunku bakterii tlenowych i beztlenowych.

- ropnie zamknięte – nakłucie lub nacięcie ropnia; przed zabiegiem odkazić skórę 70% alkoholem, pobierając odrzucić pierwszą partię ropy,
- z zmianach otwartych – okolice zmiany ropnej należy przemyć jałową solą fizjologiczną, materiał poznać z dna zmiany.

Materiał należy pobrać na: podłoże transportowe lub na podłoża do tlenowego i beztlenowego posiewu krwi oraz do jałowego pojemnika lub na wymazówkę (w celu wykonania preparatu bezpośredniego).

Układ pokarmowy

Materiały do badań:

- wymaz z odbytu – w kierunku SS (*Salmonella*, *Shigella*), pobierany jałową wymazówką wprowadzoną poza zwieracz odbytu;
- kał – z kału oddanego do jałowego basenu, grudkę wielkości orzecha laskowego należy pobrać do jałowego pojemnika; uwzględnić zwłaszcza obecność śluzu i krwi,
- badanie w kierunku *C. difficile* – do jałowego pojemnika pobrać grudkę kału lub 1 – 2 ml płynnej wydzieliny (nie przechowywać).

W przypadku podejrzenia zakażenia o etiologii wirusowej należy pobrać kał w okresie objawowym na początku choroby w celu izolacji wirusa (zakażenia entero- i adenowirusami z wysypką plamisto – grudkową, zakażenie wirusem polio) lub w celu identyfikacji antygenów wirusowych w kale (*rotawirusy*). Jeżeli próbka kału nie może być natychmiast przesłana do laboratorium należy ją zamrozić do temperatury –20^oC (w przypadku badań mających na celu izolację wirusa) lub przechowywać w lodówce.

Drogi oddechowe

Materiały z górnych dróg oddechowych:

- wymaz z przedsionka nosa – badanie w kierunku nosicielstwa *S. aureus* (wymazy należy pobrać z obydwu przedsionków),
- wymaz z migdałków – ropnie, anginy; w przypadku anginy Plauta – Vincenta lub błonicy pobierane są 2 wymazy (posiew + preparat bezpośredni),
- wymaz z tylnej ściany gardła – infekcje nosogardzieli,
- wymaz z jamy ustnej – stany zapalne błon śluzowych.

Wymazy z migdałków, tylnej ściany gardła i jamy ustnej należy pobrać rano, przed wykonaniem toalety jamy ustnej, ale po uprzednim wypłukaniu jej świeżo przegotowaną wodą.

Materiały z dolnych dróg oddechowych:

- plwocina – odkrztuszona do jałowego pojemnika rano, po wykonaniu toalety jamy ustnej i przepłukaniu jej przegotowaną wodą,
- wydzielin oskrzelowa odsysana u pacjentów zaintubowanych, pobrana o jałowego pojemnika,
- bronchoaspirat,
- popłuczyny pęcherzykowo – oskrzelowe (BAL), wydzielina pobrana metodą „szczoteczkową” – najbardziej wiarygodne materiały do badań mikrobiologicznych,
- biopłaty z płuca i opłucnej (w przypadku ropni),
- płyn opłucnowy.

Tkanki i biopłaty należy pobrać do pojemnika z małą ilością jałowej soli fizjologicznej.

W zakażeniach dolnych dróg oddechowych dodatkowo pobierane są także:

- krew (w 30% zapaleń płuc występuje bakteremia),

Układ moczowo – pęciowy

Mocz do badania mikrobiologicznego można pobrać:

- ze środkowego strumienia:
 - rano lub co najmniej po 4 godzinach od ostatniej mikcji,
 - po dokładnym umyciu okolic cewki moczowej wodą z mydłem (splukać pod bieżącą wodą, nie wycierać lub osuszyć jednorazowym ręcznikiem),
 - ze środkowej partii moczu, początkową część oddając do muszli (zawiera drobnoustroje kolonizujące ujście cewki moczowej)
- przez punkcję układu drenującego u pacjentów cewnikowanych:
 - zacisnąć cewnik moczowy na 15 – 30 minut przed pobraniem moczu,
 - przed pobraniem próbki zdezynfekować miejsce wkłucia do cewnika, uwolnić zacisk, a po zdrenowaniu kilkunastu ml moczu nakłuć cewnik i pobrać próbkę o objętości co najmniej 1 ml,
 - cewnik, w którym nie ma specjalnego miejsca przeznaczonego do wkłucia (oznaczony fragment wykonany z samouszczelniającego się materiału) po pobraniu moczu należy wymienić
- przez nakłucie nad spojeniem łonowym pełnego pęcherza – metoda rzadko stosowana, umożliwiająca diagnostyką w kierunku bakterii beztlenowych.

Mocz można pobrać do jałowego pojemnika (około 5 ml) lub w systemie Uri Swab. Materiał pobrany do pojemnika należy przesać natychmiast do laboratorium, a jeżeli to nie jest to możliwe, można przechowywać go 2 – 4 h wyłącznie w temperaturze 4°C.

Przy podejrzeniu zakażenia grzybiczego należy pobrać (w. w. metodami) 10 ml moczu; można przechowywać go w temperaturze 4°C do 14 godzin.

Inne materiały:

- wymaz z pochwy
- zapalenie pochwy – wymaz ze ściany pochwy pobrany na podłoże transportowe (wskazane badanie jakościowe i ilościowe),
- podejrzenie rzęsistkowicy – materiał pobrany z tylnego sklepienia pochwy lub dolnej łyżki wziernika umieszczony w soli fizjologicznej
- wydzielina z cewki moczowej – pobierana głównie u mężczyzn; po uprzednim oczyszczeniu okolic ujścia cewki wacikiem zwilżonym w soli fizjologicznej materiał należy pobrać wymazówką (tak pobierana jest wydzielina uzyskana w wyniku zewnętrznego ucisku cewki ku przodowi) lub eżą wprowadzoną do cewki na głębokość około 2 cm
- wymaz z szyjki macicy
Materiał do badania z pochwy i szyjki macicy należy pobrać po założeniu jałowego wziernika. W przypadku podejrzenia zakażenia gonokokami wydzielina z cewki moczowej i szyjki macicy bezwzględnie powinna być pobrana jałową eżą, ponieważ wymazówka (bawełna) może hamować wzrost gonokoków.

Oko

Wskazaniem do pobrania materiału są ropne i nieropne stany zapalne oczu, owrzodzenia, zmiany martwicze. Materiały do badań to:

- wymaz z worka spojówkowego z obydwu oczu – wymaz z oka zdrowego jest tu kontrolą,
- suche, złuszczone zmiany pobrane jałową szpatułką lub skalpelem do jałowego pojemnika,
- wydzielina pobrana jałową eżą i posiana bezpośrednio na podłoże hodowlane,
- jałowa nić (z naturalnego tworzywa, długości ok. 1 cm) umieszczona w worku spojówkowym.

Ucho

Ucho zewnętrzne – wymaz lub wydzielina pobrana do jałowego pojemnika – badanie w kierunku bakterii tlenowych.

Ucho środkowe i wewnętrzne – materiał należy pobrać do jałowej próbówki lub na podłoże transportowe uprzednio oczyszczając zewnętrzne przewody słuchowe jałową wodą destylowaną lub solą fizjologiczną. Badanie powinno być przeprowadzone w kierunku bakterii tlenowych i beztlenowych.

Materiały śródoperacyjne

- ropa i płyny wyciekowe – jak wyżej,
- tkanki – umieścić w jałowym pojemniku w niewielkiej ilości jałowej soli fizjologicznej i natychmiast przesać do badania

Kontrola środowiska

Wskazaniem do badań środowiskowych jest wystąpienie na oddziel infekcji wywołanych wieloopornymi szczepami szpitalnymi.

- kontrola powietrza – metoda swobodnej sedimentacji:
5 otwartych płytek z podłożem namnażającym należy pozostawić w różnych miejscach badanego pomieszczenia na 30 min, a po tym czasie zamknąć je i opisać przesłać do laboratorium
- kontrola powierzchni
 - metoda wymazów – zwilżoną wymazówką należy pobrać materiał z powierzchni suchych, suchą z miejsc wilgotnych,
 - metoda odcisków – przy użyciu płytek z meniskiem wypukłym, do powierzchni suchych
- kontrola personelu
 - wymazy z nosa w kierunku nosicielstwa *S. aureus*,
 - kontrola skuteczności mycia rąk – metoda odcisków