Z a k ł a d M i k r o b i o l o g i i K l i n i c z n e j
Narodowy Instytut Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie Państwowy Instytut, Warszawa
Nr Rejestru KIDL 0865
Tel.: 22 546 28 88; e-mail: zmk@pib-nio.pl

Spis treści:

1. Ogólne zalecenia
2. Zasady pobierania próbek moczu
3. Zasady pobierania wymazów z cewki moczowej, kanału szyjki macicy, pochwy
4. Zasady pobierania wymazów z nosa gardła, jamy ustnej
5. Zasady pobierania wymazów z oka
6. Zasady pobierania próbek z ran, materiału ropnego, śródoperacyjnego i płynów z jam ciała
7. Zasady pobierania plwociny
8. Zasady pobierania płynu mózgowo-rdzeniowego
9. Zasady pobierania krwi
10. Zasady pobierania wymazów z odbytu na posiew ogólny, na badania skriningowe (ESBL, VRE, CPE)
11. Zasady pobierania kału na posiew ogólny, na badanie skriningowe i na obecność toksyn A, B *C.difficile* oraz klaprotektyny
12. Zasady pobierania wycinków
13. Zasady pobierania materiału do badań serologicznych
14. Zasady pobierania fragmentów drenów, cewników, kaniul, portów itp.
15. Zasady pobierania materiału w kierunku dermatofitów
16. Zasady pobierania materiału w kierunku CMV i EBV – PCR ilościowy
17. Zasady pobierania materiału w kierunku *Pneumocystis jirovecii* – PCR jakościowy
18. Zasady pobierania wymazów z odbytu oraz ze stomii w kierunku nosicielstwa szczepami VRE i CPE (GeneXpert)I
19. Zasady pobierania materiału do badań genetycznych w kierunku zakażenia krwi - panel spetyczny (FilmArray)
20. Zasady pobierania materiału do badań genetycznych w kierunku w kierunku HCV, HBV- PCR-ilościowy (GeneXpert)
21. Zasady pobierania materiału w kierunku drobnoustrojów wykrywanych w panelu gastrologicznym (FilmArray) oraz Norovirusów i *Clostridoides diffilice* (GeneXpert)
22. Zasady pobierania materiału do badań genetycznych w kierunku obecności mikroorganizmów w panelu oddechowym (FilmArray) oraz wirusa grypy/RSV/Sars-CoV-2 i wirusa Sars-CoV-2 (GeneXpert)
23. Zasady pobierania materiału do badań genetycznych w kierunku mikroorganizmów wykrywanych w panelu meningokokowym (FilmArray)
24. Zasady pobierania materiału do badań genetycznych w kierunku mikroorganizmów wykrywanych w panelu oddechowym-szpitalnym (FilmArray)

1. ZALECENIA OGÓLNE

1) Wygenerować zlecenie ze strony www.pib-nio.pl , zakładka dla lekarzy
2) Pojemnik z materiałem klinicznym opisać w sposób umożliwiający identyfikację próbki zgodnie z danymi na zleceniu (imię i nazwisko, rodzaj materiału, data pobrania)
3) Po pobraniu materiału sprawdzić zgodność dokonanego opisu próbki/próbek ze zleceniem.
4) Za sposób pobrania i opisania materiału do badań **odpowiada osoba pobierająca materiał.**

UWAGA!

1) Materiał w postaci wymazu w **godzinach pracy ZMK** pobierać:
   A. Pracownia Bakteriologii - **jedna wymazówka**

a) bez podłoża transportowego, jeżeli istnieje możliwość natychmiastowego przekazania próbki do ZMK,
b) z podłożem transportowym, jeżeli nie ma możliwości natychmiastowego przekazania próbki do ZMK,

c) z podłożem transportowym w przypadku wymazów z ran (w tym ran przedoperacyjnych, śródoperacyjnych, pooperacyjnych), z przetoki, materiału ropnego, z jamy otrzewnej, itp. ze względu na zabezpieczenie ewentualnej flory beztlenowej.

B. Pracownia Mikologii – **dwie wymazówki**

a) bez podłoża transportowego
b) poza godzinami pracy ZMK: pobierać materiał na podłoże transportowe (jedna wymazówka).

2) Wymazy pobierać **wymazówką zwilżoną (2-3 krople) sterylną solą fizjologiczną:**
   a) zapewnia to pacjentowi większy komfort przy pobieraniu materiału,
   b) ułatwia lepsze przyleganie drobnoustrojów do wacika,
   c) przez krótki okres zabezpiecza florę mikrobiologiczną przed wysychaniem.
3) W niektórych przypadkach **materiał pobrać zgodnie z procedurą lekarską** np. wymaz z ucha po założeniu wziernika, popłuczyny oskrzelowo-pęcherzykowe w sposób typowy dla zabiegu bronchoskopii, itp. Zasady pobierania tych materiałów nie są ujęte w standardach.
4) **Warunki transportu: w temp. pokojowej (+18ºC do + 26ºC) w przypadku dostarczenia próbki do 120 min. do ZMK (dotyczy wszystkich materiałów poza płynem mózgowo-rdzeniowym oraz wymazem z oka).**
5) W przypadku konieczności **przechowywania próbek**: patrz- szczegółowy opis postępowania z określoną próbką do badania

2. ZASADY POBIERANIA PRÓBEK MOCZU

2.1. Przygotowanie pacjenta przed rutynowym pobraniem próbki moczu: **patrz:** Instrukcja samodzielnego przygotowania się i pobierania moczu na posiew.

UWAGA! Do badań mykologicznych nie stosować podłoży transportowo-wzrostowych.

2.2. Zasady ogólne pobierania moczu na posiew:

1) Mocz do badania pobrać **przed przystąpieniem do leczenia.**
2) Mocz do badania kontrolnego pobrać **po 5 dniach** od zakończenia leczenia.
3) Mocz pobrać po przerwie nocnej; jeżeli zachodzi konieczność pobrania w ciągu dnia, odstęp od ostatniego oddania moczu musi wynosić minimum 4 godziny (odpowiednią informację należy odnotować na zleceniu).
4) Przed oddaniem moczu **przygotować sterylny, jednorazowy pojemnik** do pobierania płynów fizjologicznych o pojemności 30 ml.
5) Pojemnik na mocz otworzyć wyłącznie na czas napełniania moczem.

2.3. Pobranie próbki moczu do badania **bakteriologicznego lub /i mykologicznego:**

1) **Mocz pobrać ze środkowego strumienia,** tzn.
   a) pierwszą porcję moczu oddać do toalety (zwykle ok. 30 ml),
   b) bez przerywania strumienia, pobrać mocz do pojemnika wypełniając max. do 1/3 jego objętości,
   c) resztę moczu ponownie oddać do toalety
2) Po pobraniu moczu pojemnik **szczelnie zamknąć** zakręcając pokrywkę.

UWAGA! W przypadku konieczności materiał może być przechowywany przez 24 godz. w temp. +2ºC do +8ºC.

2.4. Posiew moczu na podłoże transportowo-wzrostowe **do badania bakteriologicznego:**

1) Przed oddaniem moczu **przygotować sterylny, jednorazowy pojemnik z podłożem transportowo-wzrostowym, np. Uromedium, Uricult , inne**.
2) **Mocz pobiera się ze środkowego strumienia,** tzn.:
   a) pierwszą porcję moczu oddać do toalety (zwykle ok. 30 ml),
   b) bez przerywania strumienia, pobrać mocz do pojemnika (3/4 objętości pojemnika),
   c) zanurzyć w pojemniku płytkę z podłożami na ok.30 sekund,
   d) **wylać mocz,** płytkę umieścić ponownie w pojemniku, zakręcić.

UWAGA! Mocz posiany na podłoże transportowo-wzrostowe można pozostawić w temp. pokojowej: +18ºC do + 26ºC do 24 godzin.

2.5. Pobieranie moczu od pacjenta z cewnikiem w pęcherzu moczowym **do badania bakteriologicznego** lub /i **mykologicznego:**

1) Pobrać mocz ze **świeżo założonego cewnika**, zbierając wyciekające krople bezpośrednio do jałowego pojemnika.

UWAGA! W przypadku konieczności materiał może być przechowywany do 24 godz. w temp. +2ºC do + 8ºC.

3. ZASADY POBIERANIA WYMAZÓW Z CEWKI MOCZOWEJ,KANAŁU SZYJKI MACICY I POCHWY

3.1. Zasady ogólne pobierania materiału:

1) Materiał **z cewki moczowej** pobrać rano przed oddaniem moczu lub co najmniej 3 godziny po ostatnim oddaniu moczu.
2) Materiał od kobiet pobrać przed podmyciem się i przed zastosowanie leków dopochwowych.
3) Wydzielinę z cewki moczowej pobrać jałowym wacikiem lub jałową ezą.
4) Materiał **z kanału szyjki macicy, pochwy** pobierać zawsze po założeniu wziernika.
5) Większą wartość diagnostyczną mają wymazy z kanału szyjki macicy niż wymazy z pochwy poza diagnostyką w kierunku grzybicy. W tym przypadku pobrać materiał **z pochwy**.

3.2. Pobieranie wymazów z cewki moczowej, kanału szyjki macicy i pochwy do **badania bakteriologicznego** lub/i **mykologicznego:**

1) Wymazy z **cewki moczowej** pobrać na jałowy wacik po zwilżeniu go sterylną solą fizjologiczną.
   W przypadku małej ilości wysięku lub jego braku materiał pobrać wprowadzając wacik do cewki moczowej na głębokość ok.1 cm.
2) Wymaz z **kanału szyjki macicy –** przed pobieraniem materiału **usunąć jałowym wacikiem wewnątrzszyjkowy czop śluzowy**
   a) pobrać materiał z kanału na kolejny jałowy wacik po zwilżeniu go sterylną solą fizjologiczną, z miejsc zmienionych chorobowo
3) Wymaz z **pochwy** pobrać z miejsc zmienionych chorobowo na jałowy wacik po zwilżeniu go sterylną solą fizjologiczną.
4) Po pobraniu materiału wacik umieścić w probówce.

4. ZASADY POBIERANIA WYMAZÓW Z NOSA, GARDŁA, JAMY USTNEJ, UCHA

4.1. Przygotowanie pacjenta przed rutynowym pobraniem próbki: **patrz:** Instrukcja samodzielnego przygotowania się i pobierania wymazów z gardła ,jamy ustnej na posiew.

1) Materiał z nosa można pobierać o każdej porze dnia przed wydmuchaniem nosa oraz pod warunkiem, że przez 2-3 godz. przed badaniem nie były stosowane środki przeciwbakteryjne i inne krople, maści, kremy.
2) Wymazy z ucha pobiera lekarz zgodnie z uregulowaniami wewnętrznymi w danej placówce

4.2. Pobranie wymazów z nosa, gardła, jamy ustnej **do badania bakteriologicznego lub/i mykologicznego:**

1) Wymazy pobrać na jałowy wacik po zwilżeniu go sterylną solą fizjologiczną
   a) materiał z **nosa** pobrać osobnym wacikiem z każdego kanału nosowego,
   b) odpowiednio głęboko pobrać wymaz z kanału nosowego, nie z przedsionka nosa,
   c) wymaz z **gardła** - w pierwszej kolejności wykonać wymaz z obu migdałków, następnie z tylnej ściany gardła,
   d) materiał z **jamy ustnej** pobrać z miejsc zmienionych chorobowo.
2) Po pobraniu materiału wacik należy umieścić w probówce.

UWAGA! W przypadku konieczności materiał pobrany na podłoże transportowe może być przechowywany przez 48 – 72 godz. w temp. pokojowej: +18ºC do + 26ºC.

5. ZASADY POBIERANIA WYMAZÓW Z OKA

5.1. Przygotowanie pacjenta przed rutynowym pobraniem próbki: **patrz:** Instrukcja samodzielnego przygotowania się i pobierania wymazów z oka

5.2. Pobieranie wymazów z oka **do badania bakteriologicznego** lub/i **mykologicznego:**

1) Materiał pobierać w godzinach pracy ZMK.
2) **Materiał pobierać na wymazówkę bez podłoża transportowego (**w przypadku pacjentów hospitalizowanych w NIO-PIB przy ul Wawelskiej 15 materiał pobierać na podłoże transportowe).
3) Pobrać materiał oddzielnie z każdego oka.
4) Do pobierania materiału użyć wacik o niewielkich rozmiarach, ściśle uformowany.
5) Zwilżyć wacik sterylnym roztworem soli fizjologicznej.
6) Dokładnie odciągnąć dolną powiekę.
7) Ostrożnie pobrać materiał z worka spojówkowego wymazując w kierunku od zewnętrznego kącika oka do wewnątrz.
8) Wacik umieścić w probówce.

UWAGA! Transport w temp. pokojowej: +18ºC do + 26ºC próbki od jej pozyskania do dostarczenia do ZMK nie może przekroczyć 30 min.

6. ZASADY POBIERANIA PRÓBEK Z RAN, MATERIAŁU ROPNEGO, ŚRÓDOPERACYJNEGO I PŁYNÓW Z JAM CIAŁA

6.1. Zalecenia ogólne

1) Diagnostyka mikrobiologiczna powinna być wdrożona zawsze, gdy zachodzi konieczność leczenia antybiotykiem.
2) Próbkę pobrać przed rozpoczęciem leczenia.
3) Materiały do badań mikrobiologicznych powinny być pobierane w trakcie wstępnego, chirurgicznego opracowywania.
4) Materiał do badań mikrobiologicznych mogą stanowić:
    a) płyn/ropa/tkanka z zainfekowanego miejsca
    b) bioptaty lub aspiraty z zainfekowanych tkanek
    c) zawartość pęcherzy, jeżeli są obecne
    d) wymazy z zainfekowanych miejsc (najmniej diagnostyczny materiał)
5) Przed pobraniem materiału obrzeża rany oczyścić jałowym gazikiem zwilżonym środkiem odkażającym; ranę oczyścić jałowym gazikiem z maści, kremów, itp.
6) Jeżeli skóra na obrzeżu rany jest zmieniona (wykwity, złuszczenia) do badania **mykologicznego** pobrać zeskrobiny ze skóry – po uzgodnieniu z Pracownią Mykologii.

6.2. Pobranie próbek z ran, materiału ropnego, śródoperacyjnego, płynów z jam ciała **do badania bakteriologicznego** i /lub **mykologicznego:**

1) Okolice, z których ma być pobrany materiał oczyścić i odkazić preparatem antyseptycznym.
2) Materiał ropny aspirować igłą ze strzykawką:
    a) materiał z ropnia pobrać przez nakłucie miejsca zakażenia,
    b) w przypadku otwartych, ropiejących ran, owrzodzeń pobierać ropę igłą ze strzykawką z jak najgłębszych warstw, najlepiej z podstawy ropienia.
    c) materiał ze strzykawki, po odrzuceniu pierwszej porcji, przenieść do jałowego pojemnika
3) W przypadku głębokich ran pobrać **wycinek** (pkt.12: *zasady pobierania wycinków do badań mikrobiologicznych*).
4) Materiał można pobrać w postaci **wymazu** (**wskazana wymazówka z podłożem transportowym, ze względu na zabezpieczenie ewentualnej flory beztlenowej**) - najmniej diagnostyczny materiał.

UWAGA! W przypadku konieczności materiał pobrany na podłoże transportowe może być przechowywany przez 48 – 72 godz. w temp. pokojowej: +18ºC do + 26ºC.

7. ZASADY POBIERANIA PLWOCINY

7.1. Przygotowanie pacjenta przed pobraniem materiału:

1) Sprawdzić stan śluzówki jamy ustnej.
2) Protezy czy dostawki uzębienia wyjąć poprzedniego dnia wieczorem, przed rozpoczęciem higieny jamy ustnej.
3) Pojemnik na plwocinę otworzyć wyłącznie na czas napełniania materiałem.
4) W przypadku trudności z odkrztuszeniem plwociny zastosować:
   a) drenaż ułożeniowy, oklepywanie pleców,
   b) nawadnianie pacjenta,
   c) leki mukolityczne,
   d) inhalacje z hipertonicznego roztworu NaCl lub środkiem mukolitycznym,
   e) aspiracja wydzieliny przy użyciu bronchofiberoskopu.

7.2. Pobieranie plwociny do badania **bakteriologicznego** lub/i **mykologicznego:**

1) Pobranie materiału powinno odbyć się pod nadzorem pielęgniarki.
2) Plwocinę pobrać na czczo.
3) Umyć zęby oraz wypłukać jamę ustną przegotowaną wodą.
4) Pobrać (odkrztusić) do pojemnika najlepiej drugą porcję pochodzącą z głębszych odcinków dróg oddechowych.

UWAGA! W przypadku konieczności materiał może być przechowywany do 24 godz. w temp. +2ºC do + 8ºC. Dodatkowo można pobrać materiał na wymazówkę z podłożem transportowym (zanurzyć wymazówkę w materiale); pojemnik z materiałem przechowywać w temp. od +2ºC do +8ºC, wymazówkę w temp. pokojowej: +18°C do +26°C.

8. ZASADY POBIERANIA PŁYNU MÓZGOWO-RDZENIOWEGO

1) **Przed pobraniem próbki poinformować Zakład Mikrobiologii Klinicznej** w celu przygotowania podłoży, testów stosowanych do opracowania materiału.
2) Płyn mózgowo-rdzeniowy (PMR) pobiera lekarz zgodnie z uregulowaniami wewnętrznymi obowiązującymi na terenie jednostki
3) **Ogrzać pojemnik lub podłoże namnażająco-transportowe (meningomedium) do temperatury +36ºC ±2ºC.**
4) PMR pobrać w objętości 1-3 ml do sterylnego pojemnika (w przypadku pobierania materiału do badań analitycznych i mikrobiologicznych, do badania mikrobiologicznego przesyłać drugą porcję PMR.
5) Umieścić próbkę w pojemniku zapewniającym utrzymanie temperatury **+36ºC ±2ºC** na czas transportu.
6) **Natychmiast** po pobraniu pojemnik z PMR i formularzem zlecenia dostarczyć do ZMK.
7) W przypadku konieczności (np.: poza godzinami pracy ZMK, niewielkiej objętości płynu) pobrać PMR na podłoże namnażająco-transportowe – meningomedium – przechowywać w temperaturze +36ºC ±2ºC.
8) Jeśli materiał pochodzi z drenażu lędźwiowego, opisać na formularzu zlecenia.

UWAGA! Transport (w temperaturze +36ºC ±2ºC) próbki od jej pozyskania do dostarczenia do ZMK nie może przekroczyć **120 min**. W przypadku transportu >2 godzin (do 24 godz.), PMR pobrać na podłoże namnażająco-transportowe (meningomedium); transport w temperaturze +36ºC ±2ºC.

UWAGA! Bezwzględnie, równocześnie pobrać krew na posiew.

9. ZASADY POBIERANIA KRWI

9.1 Uwagi ogólne:

1) ZMK stosuje podłoża do systemu
a) BacT/ALERT VIRTUO firmy BIOMERIEUX
   - podłoże FA PLUS – w kierunku drobnoustrojów tlenowych (kolor nakrętki zielony) zalecana objętość pobranej krwi **10 ml,**
   - podłoże FN PLUS – w kierunku bakterii beztlenowych (kolor nakrętki pomarańczowy) zalecana objętość pobranej krwi **10 ml,**
   - W przypadku pobrania mniejszej objętości krwi (<10ml), całą objętość krwi wprowadzić do podłoża FA PLUS – w kierunku drobnoustrojów tlenowych (kolor nakrętki zielony). Informację umieścić na zleceniu

b) Bactec firmy Beton Dickinson
   - BD Bactec Mycosis w kierunku grzybów (butelka z długą szyjką), zalecana objętość pobranej krwi **10 ml**

2) Przed pobraniem materiału do badań **zweryfikować tożsamość pacjenta.**

UWAGA! W przypadku posiewu krwi (butelki z zielonym i pomarańczowym korkiem) bezwzględnie: **NIE WOLNO** naklejać dodatkowych kartek z danymi pacjenta na butelce. Nazwisko i imię **NALEŻY** wpisać na białym, najszerszym prostokątnym polu na etykiecie butelki. **ODKLEIĆ** kod butelki: biały z zielonym paskiem (butelka tlenowa), biały z pomarańczowym paskiem (butelka beztlenowa) i **NAKLEIĆ** na zleceniu (jeden pod drugim).

3) **Częstotliwość pobierania próbek krwi określa jednostka chorobowa:**
a) **podejrzenie posocznicy**
   - ostra pierwotna bakteriemia, fungemia, zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych, zapalenie kości , stawów, zapalenie płuc: pobierać co najmniej 2 próbki krwi z różnych miejsc, jedna po drugiej w ostrej fazie choroby
   - gorączka o nieznanej etiologii: pobrać 2-3 próbki krwi, jedna po drugiej, z różnych miejsc; jeśli posiewy są ujemne po 24-48 godz., pobrać kolejne 2 próbki, jedna po drugiej, z różnych miejsc.

b) **podejrzenie infekcyjnego zapalenia wsierdzia** lub innego zakażenia w łożysku naczyniowym pobrać trzykrotnie krew w ciągu pierwszej doby, w odstępach czasu nie krótszym niż 1 godzina; pierwsze dwie próbki pobrać w momencie pojawienia się gorączki,
   - przewlekłe lub podostre zakażenie: pobrać 3 posiewy krwi w odstępach ok.6 godz.
   - ostre zakażenie: pobrać 2 posiewy krwi w odstępie nie dłuższym niż 1 godz.

c) podejrzenie odcewnikowego zakażenia krwi: pobrać 2-3 posiewy krwi przez wkłucie centralne i z żyły obwodowej
d) **gorączka neutropeniczna –** pobrać 2-3 próbki krwi, równocześnie: z każdego założonego cewnika do żyły centralnej – z żyły obwodowej; jeśli nie ma wkłuć centralnych pobrać krew z różnych żył oddzielnie.
e) **gorączka o nieznanej etiologii – u chorego leczonego przeciwbakteryjnie lub/i przeciwgrzybiczo** jeśli nie można przerwać leczenia należy pobrać trzy próbki krwi w ciągu 24 godzin, **przed podaniem kolejnej dawki leku**.

9.2 Pobieranie krwi

1) Zalecaną objętość krwi (*patrz: uwagi ogólne* pkt.9.1.a)b)) pobrać zgodnie z zasadami aseptyki
2) Korki od butelek (po zerwaniu kolorowego kapselka zabezpieczającego) odkazić preparatem antyseptycznym..
3) Wprowadzić do butelek żądaną objętość krwi stosując:
   a) zestaw do pobierania krwi z igłą typu motylek oraz nasadką łącznika systemu zamkniętego – w **pierwszej kolejności** dokonać posiewu do butelki na **posiew tlenowy**, a następnie do butelki na posiew beztlenowy.
   b) igłę ze strzykawką - w **pierwszej kolejności** dokonać posiewu do butelki na **posiew beztlenowy**, a następnie do butelki na posiew tlenowy.
4) W przypadku pobierania krwi strzykawką przed wprowadzeniem krwi do butelki z podłożem **zmienić igłę.**
5) Po wprowadzeniu krwi do odpowiednich butelek, próbkę **dokładnie wymieszać.**

UWAGA! W przypadku konieczności materiał może być przechowywany maksymalnie do 24 godz., w temp. pokojowej: +18°C do + 26°C.

10. ZASADY POBIERANIA WYMAZÓW Z ODBYTU NA POSIEW OGÓLNY, NA BADANIA SKRININGOWE (ESBL, VRE, CPE)

10.1. Zalecenia ogólne:

1) Pobrać materiał przed zastosowaniem leczenia.
2) W przypadku stosowania leczenia dokładnie opisać zastosowane leki, probiotyki np. preparat Enterol 250 (zawierający szczep grzybów *Saccharomyces boulardii).*
3) Jeżeli pacjent stosuje specjalną dietę opisać preferencje np.: sery pleśniowe, dieta mleczna (kefiry, jogurty).

10.2 Pobieranie wymazów z odbytu do badania **bakteriologicznego** lub/i **mykologicznego:**

1) Okolice, z których ma być pobrany materiał dokładnie umyć.
2) Materiał pobrać w postaci wymazu na jałowy wacik po zwilżeniu go sterylną solą fizjologiczną.
3) Wacik wprowadzić poza zwieracz odbytu na głębokość ok. 3 cm (**konieczny, widoczny ślad materiału**)
4) Po pobraniu materiału wacik umieścić w probówce.

UWAGA! W przypadku konieczności materiał pobrany na podłoże transportowe może być przechowywany przez 48 – 72 godz. w temp. pokojowej: +18ºC do + 26ºC.

UWAGA!!!

1. **W przypadku pobierania wymazów z odbytu w kierunku ESBL i VRE – jedna lub dwie wymazówki.**
2. **W przypadku pobierania wymazów z odbytu w kierunku ESBL,VRE i CPE – dwie lub trzy wymazówki.**
3. **W przypadku pobierania wymazów z odbytu na posiew ogólny oraz w kierunku ESBL i VRE – dwie lub trzy wymazówki.**
4. **W przypadku pobierania wymazów z odbytu na posiew ogólny oraz w kierunku ESBL, VRE i CPE – trzy lub cztery wymazówki.**

11. ZASADY POBIERANIA KAŁU NA POSIEW OGÓLNY, NA BADANIE SCRININGOWE, KIERUNKU *CLOSTRIDIOIDES DIFFICILE* ORAZ KALPROTEKTYNY

11.1. Uwagi ogólne

1) Badanie w kierunku *C.difficile* Pracownia Bakteriologii wykonuje w dniu przyjęcia materiału, o ile materiał dostarczony jest na dwie godziny przed zakończeniem dnia pracy.
2) Badanie w kierunku ***C.difficile*** **powinno być wykonywane tylko w kale biegunkowym (nieuformowanym), z wyjątkiem pacjentów z objawami niedrożności jelit.**
3) Badanie kontrolne w kierunku *C.difficile* wykonać dopiero po 14 dniach od ostatniej dawki leku.
4) Badanie w kierunku oznaczenia kalprotektyny wykonywane jest raz w tygodniu.
   Zaleca się odstawienie niesteroidowych leków przeciwzapalnych na 2 tygodnie przed pobraniem kału do badania – przyjmowanie tych leków wpływa na podwyższenie stężenia kalprotektyny w kale.
5) Kał na posiew ogólny należy pobrać przed rozpoczęciem leczenia.
6) W przypadku stosowania leczenia dokładnie opisać zastosowane leki, probiotyki np.: preparat Enterol 250 (zawierający szczep grzybów *Saccharomyces boulardii).*
7) Jeżeli pacjent stosuje specjalną dietę, należy opisać preferencje np.: sery pleśniowe, dieta mleczna (kefiry, jogurty) itp.

11.2 Pobieranie kału do badania **bakteriologicznego** lub/i **mykologicznego**

1) Materiał pobrać szpatułką wypełniając pojemnik do około 1/3 objętości.

UWAGA! W przypadku konieczności materiał może być przechowywany do 24 godz. w temp. +2ºCdo + 8ºC.

12. ZASADY POBIERANIA WYCINKÓW

1) Próbki materiału pobrane podczas ezofagoskopii, gastroskopii, bronchoskopii, punkcji igłowej różnych narządów, materiał sekcyjny itp. w sposób typowy dla danego zabiegu **umieścić w sterylnym pojemniku.**
2) Materiał **zwilżyć** pojedynczymi kroplami sterylnej soli fizjologicznej w celu zabezpieczenia próbki przed wyschnięciem.
3) Materiał zawieszony w dużej objętości soli ma mniejszą wartość diagnostyczną.

UWAGA! W przypadku konieczności materiał może być przechowywany do 24 godz. w temp. +2ºC do +8ºC.

JAK NAJSZYBSZE PRZEKAZANIE MATERIAŁU DO BADAŃ I ZACHOWANIE WŁAŚCIWYCH WARUNKÓW TRANSPORTU DECYDUJE O POWODZENIU BADANIA MIKROBIOLOGICZNEGO

13. ZASADY POBIERANIA MATERIAŁU DO BADAŃ SEROLOGICZNYCH

1) Pobrać **krew żylną do probówki biochemicznej (**na skrzep).
2) Zalecaną objętość krwi pobrać zgodnie z zasadami aseptyki.

UWAGA! W przypadku konieczności materiał odwirować i surowicę przechowywać do 24 godz. w temp. od +2ºC do +8ºC.

1. **W przypadku wykonania wszystkich niżej wymienionych badań wystarczy pobrać krew do jednej probówki - pełna objętość probówki.**
2. **W przypadku wykonania pojedynczych badań – wystarczy pół objętości probówki.**

1. Przeciwciała IgG, IgM **CMV (**wykonywane w czwartki)
2. Przeciwciała HETEROFILNE (wykonywane codziennie), IgG VCA/EA, IgG EBNA, IgM VCA **EBV (**wykonywane w środy)
3. Przeciwciała IgG, IgM ***Toxoplasma gondii*** **(**wykonywane w piątki)
4. Przeciwciała ***Candida, Aspergillus*** (wykonywane w piątki)
5. ANTYGENY**:** ***Aspergillus*** **(**wykonywane we wtorki i czwartki) ***Cryptococcus*** **(**wykonywane codziennie), ***Candida*** (wykonywane w czwartki)

14. ZASADY POBIERANIA FRAGMENTÓW DRENÓW, CEWNIKÓW, KANIUL, PORTÓW, itp.

1) Odcięty w warunkach septycznych – **5 cm** fragment drenu, cewnika, kaniuli **umieścić w sterylnym pojemniku,** jeżeli istnieje możliwość natychmiastowego przekazania próbki do ZMK.
2) Usunięty port umieścić w sterylnym pojemniku (możliwość opracowania materiału tylko w godzinach pracy zakładu).
3) Poza godzinami pracy ZMK fragment drenu, cewnika, kaniuli umieścić probówce z **podłożem transportowym**.

UWAGA! W przypadku konieczności materiał może być przechowywany do 24 godz.

a) w temp. +2ºC do +8ºC pobrany do jałowego pojemnika,
b) w temp. pokojowej: +18ºC do + 26ºC umieszczony w podłożu transportowym (wymazówka z podłożem).

15. ZASADY POBIERANIA MATERIAŁUW KIERUNKU DERMATOFITÓW

O POWODZENIU BADANIA W KIERUNKU DERMATOFITÓW **DECYDUJE PRAWIDŁOWE POBRANIE MATERIAŁU** OBEJMUJĄCE WSZYSTKIE ELEMENTY ZMIANY – w przypadkach trudności w pobraniu materiału wskazany jest kontakt z Pracownią Mykologii. Materiał będzie pobrany przez pracownika ZMK.

15.1 Przygotowanie pacjenta przed rutynowym pobraniem próbki, **patrz:** Instrukcja samodzielnego przygotowania się i pobierania materiału (zeskrobin) w kierunku dermatofitów.

15.2. Pobranie materiałów ze skóry, paznokci

1) Przed pobraniem materiału ze skóry lub paznokci wskazane jest oczyszczenie zmian preparatem antyseptycznym (bez jodu).
2) Materiał zeskrobać tępym końcem jednorazowego, jałowego skalpela, z obrzeża zmiany, delikatnie pobierając złuszczającą się skórę np. na czarny papier lub szkiełko podstawowe, przykrywając drugim szkiełkiem podstawowym i zawinąć w papier.
3) Pobierając **materiał z paznokcia** objąć całą grubość zmian, także od spodu płytki paznokciowej
   a) materiał z paznokcia pobrać z odbarwionej, łamliwej, kruszącej się części,
   b) pobrać materiał z płytki paznokciowej w postaci pyłku, np. na czarny papier lub szkiełko podstawowe (**nie** odcinać fragmentu paznokcia - tak pobrany materiał nie ma wartości diagnostycznej).
4) Na formularzu zlecenia **dokładnie opisać** zmianę na skórze lub wygląd paznokcia (wygląd zmian: barwę, rozległość, kształt, umiejscowienie, czas trwania, ich wycofywanie się, nawracanie), wykonać zdjęcie zmiany.
5) Opisać dokładnie ewentualne stosowane leczenie i datę jego zakończenia.

UWAGA! W przypadku konieczności materiał może być przechowywany w temp. pokojowej: +18ºC do + 26ºC, do momentu dostarczenia do ZMK.

16. ZASADY POBIERANIA MATERIAŁU W KIERUNKU CMV I EBV – PCR-ILOŚCIOWY

1) Pobrać **2 ml krwi żylnej do probówki morfologicznej** zawierającej antykoagulant EDTA (po jednej probówce na każde badanie).
2) Zalecaną objętość krwi pobrać zgodnie z zasadami antyseptyki
3) Badanie w kierunku CMV wykonywane jest we wtorki i czwartki (z wyjątkiem świąt).
4) Badanie w kierunku EBV wykonywane jest w poniedziałki i środy (z wyjątkiem świąt).
5) **W przypadku potrzeby wykonania badania na cito konieczne jest zaznaczenie na zleceniu lub powiadomienie telefoniczne asystenta z Pracowni Mikrobiologicznej Diagnostyki Molekularnej (PMDM).**

UWAGA! W przypadku konieczności materiał może być przechowywany do 24 godz. w temp. +2ºC do +8ºC.

17. ZASADY POBIERANIA MATERIAŁU W KIERUNKU *PNEUMOCYSTIS JIROVECII* – PCR-JAKOŚCIOWY

1) Materiałem do badania jest **BAL** pobierany przez lekarza zgodnie z uregulowaniami wewnętrznymi obowiązującymi na terenie danej jednostki.
2) W wyjątkowych przypadkach (brak możliwości pobrania BAL-u) badanie może być wykonane z miniBAL-u, plwociny (zasady pobierania: patrz pkt. 7) – po uzgodnieniu telefonicznym z asystentem PMDM

UWAGA! W przypadku konieczności materiał może być przechowywany przez 24 godz. w temp. +2ºC do +8ºC.

18. ZASADY POBIERANIA WYMAZÓW Z ODBYTU, WYMAZÓW ZE STOMII DO BADAŃ GENETYCZNYCH W KIERUNKU NOSICIELSTWA SZCZEPAMI VRE I CPE (GeneXpert)

UWAGA!!! **Materiał** pobierać na podwójną wymazówkę firmy COPAN
Okolice, z których ma być pobrany materiał dokładnie umyć.
Obecność maści, kremów, emulsji uniemożliwia prawidłowe oznaczenie.

1) Lekko zwilżyć wymazówkę sterylną solą fizjologiczną (2 – 3 krople).
2) Włożyć wymazówkę na ok.2.5 cm za zwieracz odbytu.
3) Przekręcić 3 razy. **KONIECZNY WIDOCZNY ŚLAD MATERIAŁU !!!**
4) Włożyć wymazówkę do plastikowej probówki dołączonej do zestawu.

UWAGA! W przypadku konieczności materiał może być przechowywany do 24 godz. w temp. +2ºC do +8ºC.

19. ZASADY POBIERANIA MATERIAŁU DO BADAŃ GENETYCZNYCH W KIERUNKU ZAKAŻENIA KRWI – PANEL SEPTYCZNY (FilmArray)

UWAGA!!! Badanie wykonywane jest z próbek krwi (butelki do posiewów krwi) dostarczonych do ZMK, w których nastąpił wzrost drobnoustrojów.
W celu wykonania badania należy tylko dostarczyć zlecenie.

Drobnoustroje wykrywane w panelu spetycznym (**BCID**)		
Bakterie Gram-dodatnie	**Bakterie Gram-ujemne**	**Grzyby**
Enterococcus faecalis	*Acinetobacter calcoacetisus-baumannii complex*	*Candida albicans*
Enterococcus faecium	*Bacteriodes fragilis*	*Candida auris*
Listeria monocytogenes	*Haemophilus influenzae*	*Candida glabrata*
Staphylococcus	*Neisseria meningitidis* (otoczkowy)	*Candida krusei*
Staphylococcus aureus	*Pseudomonas aeruginosa*	*Candida parapsilosis*
Staphylococcus epidermidis	*Stenotrophomonas maltophilia*	*Candida tropicalis*
Staphylococcus lugdunensis	***Enterobacterales***	*Cryptococcus neoformans/gattii*
...Streptococcus	*Enterobacter cloace complex*	**Geny oporności**
Streptococcus agalactiae	*Escherichia coli*	ESBL –CTX M
Streptococcus pneumoniae	*Klebsiella aerogenes*	IPM- oporność na karbapenemy
Streptococcus pyogenes	*Klebsiella oxytoca*	VIM- oporność na karbapenemy
	Grupa *Klebsiella pneumoniae*	KPC- oporność na karbapenemy
	Proteus spp.	NDM- oporność na karbapenemy
	Salmonella spp.	Typ OXA-48- oporność na karbapenemy
	Serratia marcescens	*mrc-1* – oporność na kolistynę
		mecA/C - oporność na metycylinę
		mecA/C oraz MREJ (MRSA) - oporność na metycylinę
		vanA/B - oporność na wankomycynę

20. ZASADY POBIERANIA MATERIAŁU DO BADAŃ GENETYCZNYCH W KIERUNKU HCV, HBV - PCR-ILOŚCIOWY (GeneXpert)

1) Pobrać **krew żylną do probówki biochemicznej (**na skrzep).
2) Zalecaną objętość krwi pobrać zgodnie z zasadami antyseptyki

UWAGA! W przypadku konieczności materiał odwirować, surowicę przechowywać do 24 godz. w temp.od +2ºC do +8ºC.

21. ZASADY POBIERANIA MATERIAŁU DO BADAŃ GENETYCZNYCH W KIERUNKU DROBNOUSTROJÓW WYKRYWANYCH W PANELU GASTROLOGICZNYM (FilmArray) ORAZ NOROVIRUSÓW I *CLOSTRIDIOIDES DIFFILICE* (GeneXpert)

UWAGA!!! Okolice, z których ma być pobrany materiał dokładnie umyć.
Obecność maści, kremów, emulsji uniemożliwia prawidłowe oznaczenie.

1) Pobrać nieuformowany kał do sterylnego pojemnika, do około 1/3 objętości.

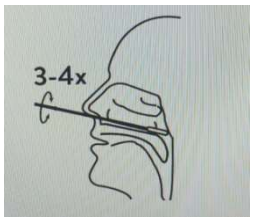
UWAGA! W przypadku konieczności materiał może być przechowywany do 24 godz. w temp. +2ºC do +8ºC.

Drobnoustroje wykrywane w panelu gastrologicznym (**GI**)	
Bakterie	**Wirusy**
Campylobacter (C. jejuni/C. coli/C. upsaliensis)	Adenowirus F 40/41
Clostridium difficile (toksyna A/B)	Astrowirus
Plesiomonas shigelloides	Norowirus GI/GII
Salmonella	Rotawirus A
Vibrio (V.parahaemolyticus/V.vulnificus/V.cholerae)	Saprowirus (genogrupa I, II, IV, V)
Vibrio cholerae	
Yersinia enterocolitica	
Wywołujące biegunkę szczepy E.coli/Shigella	Pasożyty
Szczepy adherentne *E.coli* (EAEC)	*Cryptosporidium*
Szczepy enteropatogenne *E.coli* (EPEC)	*Cyclospora cayetanensis*
Szczepy enterotoksyczne *E.coli* (ETEC) *lt/st*	*Entamoeba histolytica*
Szczepy werotoksyczne *E.coli* ((STEC) *stx1/stx2*	*Gardia lamblia*
E.coli O157	
Shigella/szczepy enteroinwazyjne *E.coli*(EIEC)	

22. ZASADY POBIERANIA MATERIAŁU DO BADAŃ GENETYCZNYCH W KIERUNKU OBECNOŚCI MIKROORGANIZMÓW W PANELU ODDECHOWYM (FilmArray) ORAZ WIRUSÓW GRYPY/RSV/SARS-CoV-2 i WIRUSA SARS-CoV-2 (GeneXpert)

UWAGA!!! Materiał z nosogardzieli pobrać na zestaw UTM Kit

1) Pobrać wymaz z nosogardzieli wymazówką z zestawu UTM: przechylić głowę pacjenta do tyłu. Włożyć wymazówkę przez nozdrze. Pozostawić wymazówkę w miejscu przez 10 sekund. Delikatnie potrzeć i obrócic wymazówkę 3-4 razy. Powoli wyjąć wymazówkę.
2) Wymazówkę włożyć do pojemnika z płynnym podłożem (czerwony/łososiowy płyn).
3) Ułamać na wysokości przewężenia.
4) Zamknąć pojemnik. **UWAGA!!!!** W przypadku badania w kierunku **SARS-CoV-2** pojemnik zamknąć w foliowej torebce.



UWAGA! W przypadku konieczności materiał może być przechowywany do 24 godz. w temp. +2ºC do +8ºC.

Drobnoustroje wykrywane w panelu oddechowym (**RP**)	
Bakterie	**Wirusy**
Bordetella pertussis	Adenovirus (AdV)
Bordatella parapertusis	Coronavirus (CoV) – 229E, HKU1, NL63, OC43
Chlamydophila pneumoniae	Middle East Respiratory Syndrom Coronavirus (MRES-CoV)
Mycoplasma pneumoniae	Severe Acute Respiratory Syndrom Coronavirus (SARS-CoV-2)
	Human Metapneumovirus (hMPV)
	Human Rhinovirus (HRV)/*Enterovirus* (EV)
	Influenza A (FLU A): podtypy H1, H1-2009, H3
	Influenza B (FLU B)
	Parainfluenza Virus (typy: PIV1, PIV2, PIV3, PIV4)
	Respiratory Syncytial Virus (RSV)

GeneXpert: detekcja wirusów grypy A, grypy B oraz wirusa RSV, SARS-CoV-2 – czas badania: 47 minut (od wstawienia próbki na pokład aparatu).
GeneXpert: detekcja wirusa SARS-CoV-2 – maksymalny czas badania: 51 minut (od wstawienia próbki na pokład aparatu).

23. ZASADY POBIERANIA MATERIAŁU DO BADAŃ GENETYCZNYCH W KIERUNKU OBECNOŚCI MIKROORGANIZMÓW W PANELU MENINGOKOKOWYM (FilmArray)

1) Płyn mózgowo-rdzeniowy (PMR) pobiera lekarz zgodnie z uregulowaniami wewnętrznymi obowiązującymi na terenie danej jednostki.
2) Płyn mózgowo-rdzeniowy pobrać w objętości **minimum 0.3 ml** do sterylnego pojemnika z zachowaniem ścisłej aseptyki.

UWAGA! W przypadku konieczności materiał może być przechowywany do 24 godz. w temp. +2ºC do +8ºC.

Drobnoustroje wykrywane w panelu meningokokowym	
Bakterie	**Wirusy**
Escherichia coli	*Human herpesvirus 5* (HHV-5) zwyczajowo: *Cytomegalovirus* (CMV)
Haemophilus influenzae	*Human herpesvirus 6* (HHV-6)
Listeria monocytogenes	Human parechovirus
Neisseria meningitidis	*Human herpesvirus 3* (HHV-3), zwyczajowo: *Varicella zoster virus* (HSV)
Streptococcus agalactiae	Enterovirus (EV)
Streptococcus pneumoniae	*Human herpesvirus 1* (HHV-1) zwyczajowo: *Herpes simplex virus 1* (HSV-1)
	Herpes simplex virus 2 (HHV-2), zwyczajowo: *Herpes simplex virus 2* (HSV-2)
Grzyby	
Cryptococcus neoformans/gattii	

24. ZASADY POBIERANIA MATERIAŁU DO BADAŃ GENETYCZNYCH W KIERUNKU OBECNOŚCI MIKROORGANIZMÓW W PANELU ODDECHOWYM - SZPITALNYM (FilmArray)

1) BAL, miniBAL – materiał pobrać z zgodnie z uregulowaniami wewnętrznymi obowiązującymi na terenie danej jednostki.
2) Plwocina – patrz pkt. 7.

UWAGA! W przypadku konieczności materiał może być przechowywany do 24 godz. w temp. +2ºCdo + 8ºC.

Drobnoustroje wykrywane w panelu oddechowym (szpitalnym)		
Bakterie Gram-ujemne	**Bakterie Gram-dodatnie**	**Wirusy**
Acinetobacter calcaoaceticus baumannii complex	*Staphylococcus aureus*	Adenovirus (AdV)
Enterobacter cloace complex	*Streptococcus agalactiae*	Coronavirus (CoV)
Escherichia coli	*Streptococcus pneumoniae*	Human Rhinovirus (HRV)/ Enterovirus (EV)
		Ludzki metapneumowirus
Haemophilus influenzae	*Streptococcus pyogenes*	*Influenza A* (FLU A)
Klebsiella aerogenes	**Bakterie atypowe**	*Influenza B* (FLU B)
Klebsiella oxytoca	*Chlamydophila pneumoniae*	*Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus* (MERSCoV)
Klebsiella pneumoniae group	*Legionella pneumophila*	*Parainfluenza Virus*
Moraxella catarrhalis	*Mycoplasma pneumoniae*	*Respiratory Syncytial Virus* (RSV)
Proteus spp.	**Geny oporności**	
Pseudomonas aeruginosa	oporność na metycylinę - *mecA* /C, MREJ	
Serratia marcescens	oporność na karbapenemy – KPC, NDM, OXA-48-like, IMP, VIM	
	ESBL: CTX-M	