

Wytyczne dotyczące pobierania, transportu i przechowywania próbek do badań.

Każda próbka powinna być opisana w sposób jednoznacznie ją identyfikujący – danymi pacjenta .

Każdorazowo skrót „dane pacjenta”: oznacza: imię i nazwisko, numer PESEL, datę i godzinę pobrania próbki.

Spis treści:

- A. Badanie na nosicielstwo pałeczek z rodzaju Salmonella i Shigella u osób zdrowych.
- B. Badania bakteriologiczne kału u osób chorych, ozdowieńców, nosicieli, i u osób ze styczności z chorym.
- C. Test biologicznej kontroli skuteczności procesu sterylizacji (Sporal A, Sporal S).
- D. Identyfikacja szczepu bakteryjnego.
- E. Kał do badania wirusologicznego.
- F. Próbki do badań serologicznych.
- G. Wymaz z gardła/nosa do badania wirusologicznego.
- H. Popłuczyny oskrzelowe/płyn osierdziowy do badania wirusologicznego.
- I. Badania parazytologiczne

A. Badanie na nosicielstwo pałeczek z rodzaju Salmonella i Shigella u osób zdrowych.

Materiałem przeznaczonym do badania jest kał lub wymazu z kału.

1. Czas pobierania próbek

Badanie na nosicielstwo to badanie trzech próbek kału pobranych z **3 kolejnych dni (po jednej z każdego dnia)**.

2. Metody pobierania próbek

Świeży kał po oddaniu do czystego, uprzednio wyparzonego wrzątkiem i wysuszonego naczynia (basen, nocnik) lub naczynia jednorazowego użycia (talerz) pobrać przy pomocy jałowej wymazówki wyjętej z próbówki z podłożem transportowym.

Pobieranie wymazu z kału do podłoża transportowego:

- wyjąć wymazówkę z próbówki z podłożem transportowym lub z zestawu transportowego tuż przed pobraniem próbki kału,
- wymazówkę trzymać za osadzony na niej korek,
- pobrać próbkę kału (z kilku miejsc) przez włożenie wacika umocowanego na wymazówce i obrócenie go kilkakrotnie w materiale kałowym; na waciku musi być widoczny kał! UWAGA; minimalna ilość kału to ok 100 µg (wielkość ziarnka kukurydzy),

- wyjąć korek z probówki z podłożem transportowym, umieścić tam wymazówkę tak, aby koniec wymazówki z pobranym kałem zanurzony był w podłożu transportowym i szczelnie zamknąć probówkę,
- na probówce umieścić dane pacjenta, wypełnić zlecenie (Załącznik nr 1 lub 2),
- próbkę umieścić w chłodnym miejscu ($4\div 8^{\circ}\text{C}$) do czasu przekazania do badania.

3. Transport próbek

Wszystkie 3 próbki dostarczyć razem, najpóźniej w ciągu 60 godzin od daty pobrania pierwszej z nich w **godzinach pracy Punktów Przyjmowania Próbek (PPP)**. Informacje o funkcjonowaniu PPP dostępne na stronie internetowej wsse.krakow.pl.

Czas i temperatura transportu oraz przechowywania próbek do badań powinny być zgodne z certyfikatem użytego komercyjnego podłoża transportowego (Amies'a, Cary-Blaira, Stuarda itp.). Zazwyczaj jest to temperatura $4\div 8^{\circ}\text{C}$. Próbek NIE ZAMRAŻAĆ!

Osoba wykonująca badanie bakteriologiczne kału do celów sanitarno-epidemiologicznych powinna dostarczyć do badania 3 próbki kału (próbki pobierać raz dziennie przez trzy kolejne dni). W razie trudności z uzyskaniem materiału do badań (zaparcia) informujemy, że odstęp w pobraniu pomiędzy kolejnymi próbkami nie powinien przekraczać 1 tygodnia.

UWAGA: nie pobierać kału do badania w trakcie terapii antybiotykami, ani innymi lekami wpływającymi na florę bakteryjną, próbki można pobrać dopiero po zakończeniu działania danego leku (proszę stosować się do informacji zawartych w ulotce)

Pojemnik z próbką do badania transportować w pozycji pionowej, ostrożnie, w sposób uniemożliwiający uszkodzenie (zgniecenie, pęknięcie pojemnika).

Najświeższa z próbek może być pobrana do jałowego pojemnika na kał bez podłoża transportowego (kałówka). W tym celu należy za pomocą łopatki dołączonej do pojemnika pobrać próbkę kału (z kilku miejsc masy kałowej) zapełniając pojemnik do 1/3 objętości (wielkość orzecha włoskiego). Pojemnik dokładnie zakręcić. Na pojemniku umieścić dane pacjenta, włożyć do foliowego woreczka i zawiązać.

Kał w pojemniku bez podłoża transportowego dostarczyć do laboratorium w ciągu 2 godzin od pobrania. Jeśli jest to niemożliwe, przechowywać próbkę w temperaturze $4\div 8^{\circ}\text{C}$ i dostarczyć do PSSE/WSSE w ciągu 12 godzin od pobrania. Próbek nie wolno zamrażać.

B. Badania bakteriologiczne kału u osób chorych, ozdrowieńców, nosicieli, i u osób ze styczności z chorym.

Najlepszym materiałem przeznaczonym do badania jest kał. Jeśli nie ma możliwości dostarczenia próbek do laboratorium w ciągu 2-3 godzin należy pobrać wymazu z kału.

1. Czas pobierania próbek

Od osób chorych próbki pobierać:

- w okresie objawowym
- przed antybiotyk- i chemioterapią lub po okresie działania użytego do leczenia pacjenta leku

- w momencie nawrotu objawów żołądkowo-jelitowych (ból brzucha, biegunka itp.)

Od ozdrowieńców i nosicieli:

- próbki należy pobierać po okresie działania użytego do leczenia pacjenta leku
- o ilości i częstotliwości badań decydują Oddziały Nadzoru Epidemiologii PSSE

Od osób ze styczności:

- o ilości i częstotliwości badań decydują Oddziały Nadzoru Epidemiologii PSSE
2. Metody pobierania próbek

Świeży kał po oddaniu do czystego, uprzednio wyparzonego wrzątkiem i wysuszonego naczynia (basen, nocnik) lub naczynia jednorazowego użycia (talerz) pobrać przy pomocy jałowej szpatułki będącej częścią pojemnika na kał lub za pomocą wymazówki z zestawu z podłożem transportowym. W przypadku niemowlęcia próbkę do badania należy pobrać z pieluszki.

Kał pobieramy z miejsc o zmienionym wyglądzie (krew, śluz, ropa), z kilku miejsc, wypełniając pojemnik do 1/3 (wielkość orzecha włoskiego). Pojemnik dokładnie zakręcić. Na pojemniku umieścić dane pacjenta, włożyć do foliowego woreczka i związać. Czytelnie wypełnić zlecenie (Załącznik nr 3).

W przypadku kału płynnego należy pobrać około 1-2 ml.

Pobieranie wymazu z kału:

- wyjąć wymazówkę z próbki z podłożem transportowym lub z zestawu transportowego tuż przed pobraniem próbki kału,
- wymazówkę trzymać za osadzony na niej korek,
- pobrać kał (z kilku miejsc masy kałowej) przez włożenie do niego wacika umocowanego na wymazówce i obrócenie go kilkakrotnie w materiale kałowym; na waciku musi być widoczny kał! UWAGA; minimalna ilość kału to ok 100 µg (wielkość ziarnka kukurydzy),
- wyjąć korek z próbki z podłożem transportowym, umieścić tam wymazówkę tak, aby koniec wymazówki z pobranym kałem zanurzony był w podłożu transportowym i szczelnie zamknąć próbkę,
- na próbce umieścić dane pacjenta, wypełnić zlecenie (Załącznik nr 3),
- próbkę umieścić w chłodnym miejscu (4÷8°C) do czasu przekazania do badania.

3. Transport próbek

Próbki kału należy dostarczyć do laboratorium w ciągu 2-3 godzin od pobrania. Jeśli jest to niemożliwe, przechowywać próbkę w temperaturze 4÷8°C i dostarczyć do PSSE/WSSE w ciągu 12 godzin od pobrania. Próbek nie wolno zamrażać.

Próbki pobrane do próbki z podłożem transportowym dostarczyć, najpóźniej w ciągu 60 godzin od daty.

Czas i temperatura transportu oraz przechowywania próbek do badań powinny być zgodne z certyfikatem użytego komercyjnego podłoża transportowego (Amies'a, Cary-Blaira, Stuarda itp.) Zazwyczaj jest to temperatura 4÷8°C. Próbek NIE ZAMRAŻAĆ!

C. Test biologicznej kontroli skuteczności procesu sterylizacji (Sporal A, Sporal S).

Biologiczną kontrolę procesu sterylizacji wykonać zgodnie z zaleceniami producenta testów wskaźnikowych (Sporale).

Do badania dostarczyć testy wskaźnikowe wyjęte ze sterylizatora poddane procesowi sterylizacji wraz z testem kontrolnym nie poddanym temu procesowi (testy muszą być tej samej serii), stanowiącym kontrolę żywotności drobnoustrojów. Należy zwrócić uwagę na datę ważności testów.

W przypadku sterylizatora o pojemności 20 l dostarczyć 2 testy, a pojemności powyżej 20 l do badania dostarczy 3 testy.

Testy dostarczyć do laboratorium w czasie nie dłuższym niż 24 godziny z wypełnionym zleceniem (Załącznik nr 4).

D. Identyfikacja szczepu bakteryjnego

Wyizolowany szczep bakteryjny przesłać na agarku amerykańskim. Jeśli laboratorium przesyłające szczep nie dysponuje ww podłożem, dopuszcza się przesłanie szczepu na podłożu transportowym (Amies'a, Cary-Blaira, Stuarda).

Szczep dostarczyć do laboratorium w szczelnie zamkniętej probówce lub płytce. Probówkę lub płytkę zawinąć w chłonny materiał (wata, bibuła) tak, aby w przypadku uszkodzenia materiał zakaźny został zaabsorbowany i nie wydostał się na zewnątrz. Tak opakowaną próbkę umieścić w plastikowym pojemniku lub woreczku zapobiegającemu uszkodzeniu zawartości.

Czas transportu do laboratorium nie może przekraczać 24 godzin w temperaturze otoczenia. Szczepów nie wolno zamrażać.

Wraz ze szczepem dostarczyć wypełnione zlecenie (Załącznik nr 3).

W rubryce: „zlecam badanie” należy podać:

- nazwę szczepu,
- z jakiego materiału pochodzi szczep

W miejscu „rozpoznanie/istotne dane kliniczne badanego” należy wskazać od kogo szczep został wyizolowany (chory, ozdrowieniec, nosiciel, styczność z chorym – zaznaczyć; szczep z materiału post mortem – dopisać).

Jeśli szczep wyizolowano z próbek wody lub żywności podać informację z jakiego produktu żywnościowego został wyizolowany.

E. Kał do badania wirusologicznego.

Próbki do badań wirusologicznych muszą być transportowane w obniżonej temperaturze ponieważ podwyższona temperatura jest jedną z przyczyn inaktywacji wirusa w materiale diagnostycznym.

1. Badanie w kierunku antygenów wirusowych (rota-, adeno- i norowirusy).

Świeży kał po oddaniu do czystego, uprzednio wyparzonego wrzątkiem i wysuszonego naczynia (basen, nocnik) lub naczynia jednorazowego użycia (talerz) pobrać przy pomocy jałowej szpatułki będącej częścią pojemnika na kał. W przypadku niemowlęcia próbkę do

badania należy pobrać z pieluszki. Pojemnik na kał powinien być czysty, suchy, wodoodporny, nie zawierać detergentów, ani podłoży transportowych. Należy pobrać reprezentatywną próbkę kału (1-2 ml w przypadku kału płynnego lub 1-2 g z masy kałowej – wielkość ziarnka grochu).

Pojemnik dokładnie zakręcić. Na pojemniku umieścić dane pacjenta, włożyć do foliowego woreczka i zawiązać. Czytelnie wypełnić zlecenie (Załącznik nr 3).

Wykrycie wirusów jest najbardziej prawdopodobne, kiedy próbka pobrana jest w okresie ostrych objawów choroby. Maksymalne wydalanie wirusów w kale stwierdza się tuż po wystąpieniu objawów choroby.

Próbki należy dostarczyć do laboratorium niezwłocznie po ich zebraniu, a jeśli to niemożliwe zaleca się ich schłodzenie i transportowanie w temperaturze 4÷8°C (w termotorbie z wkładem chłodzącym). Wraz z próbką dostarczyć wypełnione zlecenie (Załącznik nr 3).

2. Kał do hodowli w kierunku Enterowirusów.

W celu wykonania izolacji wirusa próbki należy pobrać we wczesnej fazie choroby, przed podaniem leków przeciwwirusowych.

Kał pobrać do jałowego, suchego pojemnika w ilości 5-10 g (wielkość orzecha włoskiego). Próbkę schłodzić i dostarczyć do laboratorium do 2 godzin od pobrania (transportować w temperaturze 4÷8°C w termotorbie z wkładem chłodzącym). Jeżeli czas dostarczenia próbki będzie dłuższy, próbkę zamrozić i dostarczyć do badania w stanie nierozmrożonym (w termosie z lodem lub termotorbie z wkładem chłodzącym).

Wraz z próbką dostarczyć wypełnione zlecenie (Załącznik nr 3).

F. Próbki do badań serologicznych.

1. Krew do badania serologicznego.

- Pacjent od którego pobierana jest krew może być na czczo lub po lekkostrawnym posiłku.
- Do jałowej probówki pobrać 3÷4 ml krwi żyłnej „na skrzep”.
- Probówkę dokładnie zamknąć korkiem.
- Krew nie może być hemolizowana.
- Nie należy zamrażać krwi ze względu na możliwość wystąpienia hemolizy.
- Na probówce umieścić dane pacjenta, wypełnić zlecenie (Załącznik nr 3).
- Próbkę krwi dostarczyć w dniu jej pobrania. Jeśli to niemożliwe, przechowywać w temperaturze 4÷8°C i dostarczyć do badania jak najszybciej w dniu następnym.

2. Przygotowanie surowicy krwi:

- Krew należy odwirować (3 min./3000 rpm) a uzyskaną surowicę odlać do jałowej, jednorazowej, szczelnie zamykanej probówki.
- Surowica nie może być przerośnięta, zanieczyszczona, hemolizowana, ze skrzepami krwi.
- Surowica może być przechowywana do 48 godzin po pobraniu w temperaturze 4÷8°C
- Surowica przechowywana dłużej niż 48 godzin musi być zamrożona w temperaturze (-20°C) lub niższej.

3. Płyn mózgowo-rdzeniowy (PMR) i płyn stawowy:

- płyn pobrać sterylnie, z nakłucia lędźwiowego w przypadku płynu mózgowo-rdzeniowego lub z nakłucia stawu (płyn stawowy) w ilości odpowiedniej do wykonania zleczanych badań do jałowego, suchego, szczelnie zamykanego pojemnika,
- płyn nie może zawierać domieszki krwi,
- na probówce umieścić dane pacjenta, wypełnić zlecenie (Załącznik nr 3),
- płyn może być przechowywany w temperaturze 4÷8°C do 24 godzin od pobrania i w tym czasie musi być dostarczony do laboratorium
- jeżeli płyn przechowywany jest dłużej niż 24 godziny należy go zamrozić w temperaturze (-20°C).

Minimalne ilości PMR do wykonania jednej analizy są następujące:

- CMV/HSV/VZV lub EBV : 1 analiza = 0,100 ml (IgG/ ELISA lub IgM/ELISA)
- ENTERO/ BORELIOZA : 1 analiza = 0,150 ml (IgG/ ELISA lub IgM/ELISA)
- BORELIOZA : 1 analiza = 0,700 ml (IgG/ WB lub IgM/ WB)

Minimalna ilość płynu stawowego jest następująca:

- BORELIOZA : 1 analiza = 0,150 ml (IgG/ ELISA lub IgM/ ELISA)

4. Transport krwi, surowicy, płynu mózgow-rdzeniowego:

- W miarę możliwości próbki dostarczyć do laboratorium w dniu pobrania lub następnego dnia.
- Próbkę transportować w termotorbie z wkładem chłodzącym.
- Zamrożoną surowicę, PMR lub płyn stawowy transportować w termosie z lodem lub termotorbie z wkładem chłodzącym.

G. Wymaz z gardła/nosa do badania wirusologicznego.

Próbki do badań wirusologicznych muszą być transportowane w obniżonej temperaturze ponieważ podwyższona temperatura jest jedną z przyczyn inaktywacji wirusa w materiale diagnostycznym.

1. Pobranie wymazu z gardła/nosa:

- Wymaz z gardła pobrać na czczo.
- Używając szpatułki docisnąć język ku dołowi, pozwoli to uniknąć zanieczyszczenia wymazu śliną
- Sterylnym patyczkiem wyjętym z probówki transportowej (probówki bez żelowego podłoża transportowego) energicznie potrząść obie powierzchnie migdałków i tylną ścianę gardła bez dotykania powierzchni jamy ustnej Uwaga: do badania techniką immunofluorescencyjną (OIF) wymazówka może mieć drewniany patyczek i bawełniany wacik. Do badania techniką PCR koniecznie należy użyć wymazówki z tworzywa sztucznego z wacikiem z włókna syntetycznego.
- Patyczek wymazowy z pobranym materiałem umieścić w probówce transportowej, uważając, żeby nie dotykać wacikiem jej ścianek.
- Następnie sterylnym patyczkiem wymazowym pobrać wymaz z lewego nozdrza. Wymaz powinien być pobrany energicznie, aby mieć pewność, że zawiera zarówno komórki, jak i śluz z wnętrza nozdrza. Wymaz umieścić w tej samej probówce, co wymaz z gardła.

- Za pomocą kolejnego patyczka wymazowego pobrać w ten sam sposób wymaz z prawego nozdrza i umieścić w tej samej probówce transportowej (w jednej probówce transportowej znajdują się trzy patyczki z wymazami).
 - Do próbki wlać 1÷2 ml jałowej soli fizjologicznej (0,9% NaCl) lub PBS i dokładnie zamknąć. Próbka musi być zanurzona w płynie. Unikać dodania zbyt dużej ilości płynu, aby niepotrzebnie nie rozcieńczać próbki. Zbyt długie patyczki przyciąć.
 - Probówkę opisać danymi pacjenta, wypełnić zlecenie (Załącznik nr 3).
2. Pobieranie wymazu z gardła i nosa do badań w kierunku grypy w programie Sentinel.
 - Do badania wirusów grypy techniką PCR próbki muszą być pobierane wymazówką z tworzywa sztucznego z wacikiem z włókna syntetycznego (zalecenia Krajowego Ośrodka ds. Grypy NIZP-PZH).
 - Postępować jak w punkcie 1.
 - Probówkę opisać danymi pacjenta, wypełnić zlecenie (Załącznik nr 3).

Wymazy dostarczyć do laboratorium w ciągu 2 godzin od pobrania. Zaleca się transportowanie próbki w termotorbie z wkładem chłodzącym, w pozycji pionowej. Jeśli transport w ciągu 2 godzin jest niemożliwy wymazy przechowywać w temperaturze 4÷8°C i dostarczyć do laboratorium w ciągu 24 godzin w termotorbie z wkładem chłodzącym. Nie zamrażać.

H. Popłuczyny oskrzelowe/płyn osierdziowy do badania wirusologicznego.

1. Pobieranie materiału:
 - Do jałowej próbki pobrać około 2 ml popłuczyn oskrzelowych/płynu osierdziowego
 - Probówkę dokładnie zamknąć korkiem
 - Na probówce umieścić dane pacjenta, wypełnić zlecenie (Załącznik nr 3)
 - Probówkę dostarczyć do badania w dniu jej pobrania. Jeśli to niemożliwe, należy przechowywać ją w 4÷8°C i dostarczyć do laboratorium w ciągu 24 godzin w termotorbie z wkładem chłodzącym. Nie zamrażać.

I. Badania parazytologiczne

Próbką do badania jest: kał, wymaz okołoodbytniczy.

Zalecenia dotyczące pobrania próbki kału do badania parazytologicznego obejmują zarówno badania metodami koproskopowymi (mikroskopowymi) w kierunku pasożytów jelitowych jak i badanie serologiczne w kierunku antygenu Giardia lamblia (metoda ELISA).

Próbkę kału pobrać z wypróżnienia spontanicznego przed podaniem środków kontrastujących, antybiotyków, preparatów przeciwbiegunkowych itp. i dostarczyć do laboratorium bezpośrednio po jej oddaniu.

1. Pobieranie próbki kału:
 - Kał należy pobrać (po wcześniejszym opróżnieniu pęcherza moczowego) do czystego, suchego naczynia lub naczynia jednorazowego użycia (talerz)

- przy pomocy łopatkki umieszczonej w jałowym pojemniku pobrać kał z różnych miejsc wypróżnienia w ilości ok. 10 g (próbka powinna zawierać minimum 1/2 pojemnika)
 - przy pobieraniu próbki unikać zanieczyszczenia wodą i moczem
 - pojemnik dokładnie zamknąć, opisać pojemnik danymi pacjenta, umieścić w foliowym woreczku, wypuścić powietrze z woreczka i zawiązać go na węzeł.
2. Pobieranie wymazu około odbytniczego przy użyciu wymazówki z nałożonym celofanem:
- wymaz wykonać rano, **przed** wypróżnieniem i umyciem
 - wyjąć wymazówkę, na której nałożony jest celofan (nie zdejmować celofanu; jest on potrzebny do badania)
 - zwilżyć celofan letnią przegotowaną wodą
 - rozchylić pośladzki i okrężnym ruchem wykonać wymaz z zewnętrznych fałdów i okolicy odbytu
 - wymazówkę włożyć z powrotem do plastikowego pojemnika, dokładnie zamknąć, opisać danymi pacjenta i umieścić w foliowym woreczku, wypuścić powietrze z woreczka i zawiązać go na węzeł.

Uwaga: Konieczne są trzy próbki kału i wymazu pobrane w odstępach 3 - 4 dni.

- Do każdej próbki (kał + wymaz) dołączyć zlecenie (Załącznik nr 3).
3. Transport próbki:
- Próbki do badania oddać w dniu ich pobrania. Jeśli dostarczenie próbki do badania w dniu jej pobrania jest niemożliwe, próbkę przechować w temperaturze 4÷8°C i dostarczyć do badania jak najszybciej w dniu następnym. Próbek nie zamrażać!
 - Pojemnik z próbką do badania transportować w pozycji pionowej, ostrożnie, w sposób uniemożliwiający uszkodzenie (zgniecenie, pęknięcie pojemnika).