


| | | |
|---|--|--|
|  <p>Szpital Uniwersytecki w Krakowie</p> | INSTRUKCJA | I-P-ZM-02/07 |
| | Pobieranie i przechowywanie materiałów z ran i materiałów śródoperacyjnych do mikrobiologicznych badań laboratoryjnych. | Wydanie V <i>nr wydania</i> |
| | | 23.02.2024 <i>data opracowania</i> |
| | | Strona: 1 z 6 |

1. Cel i zakres

1.1. Celem Instrukcji jest:

- standaryzacja fazy przedlaboratoryjnej badań mikrobiologicznych;
- zapewnienie oczekiwanej wartości diagnostycznej pozyskanych próbek materiału.

1.2. Przedmiotem Instrukcji są zasady postępowania medycznego i diagnostycznego, (mikrobiologicznego) kluczowe przy realizacji działań związanych z przygotowaniem pacjenta oraz z pobraniem, oznakowaniem i zabezpieczeniem próbek do mikrobiologicznych badań laboratoryjnych.

1.3. Instrukcja dotyczy personelu medycznego:

- Oddziałów Klinicznych SU/NSSU,
- Poradni przyklinicznych,
- Punktów pobrań i gabinetów zabiegowych,
- Podmiotów uprawnionych związanych i niezwiązanych umową na świadczenie badań laboratoryjnych.

2. Definicje i terminologia

2.1. **Ropa** – gęsty, mętny płyn powstający wskutek stanu zapalnego zawierający wysięk, mikroorganizmy, martwicze tkanki oraz leukocyty.

2.2. **Ropień** – ostro odgraniczony zbiornik ropy.

2.3. **Stopa cukrzycowa** – zakażenie, owrzodzenie, destrukcja tkanek głębokich stopy spowodowane uszkodzeniem nerwów obwodowych i/lub naczyń stopy o różnym stopniu zaawansowania.


2.4. **Tkanka** – zespół komórek o podobnej budowie, określonych czynnościami, wspólnym pochodzeniu, przemianie materii i przystosowanych do wykonywania określonej funkcji w organizmie.

2.5. **Biopsja** – metoda inwazyjnego pobrania materiału.

3. Opis postępowania

3.1. Zasady ogólne - Pobranie materiału z zakażenia miejsca operowanego

- 1) Przygotować probówkę z **podłożem transportowo-wzrostowym typu Amies** do pobierania i transportu próbek.
- 2) Wykonać higieniczną dezynfekcję rąk.
- 3) Nałożyć rękawice medyczne sterylne.
- 4) Wymazówką pobrać materiał odpowiednio do rodzaju zakażenia: wysięk / ropną wydzielinę z dna nacięcia lub tkankę podskórną z miejsca nacięcia – preferowana aspiracja, jeśli możliwa. Treść płynną pobrać aseptycznie z powierzchniowych warstw nacięcia za pomocą wymazówki z zestawu transportowego.

| | | |
|---|--|--|
|  <p>Szpital Uniwersytecki w Krakowie</p> | INSTRUKCJA | I-P-ZM-02/07 |
| | Pobieranie i przechowywanie materiałów z ran i materiałów śródoperacyjnych do mikrobiologicznych badań laboratoryjnych. | Wydanie V <i>nr wydania</i> |
| | | 23.02.2024 <i>data opracowania</i> |
| | | Strona: 2 z 6 |

- 5) Aseptycznie odkręcić korek probówki i bez dotykania ścianek fiolki wprowadzić wymazówkę tak, by zanurzyła się w podłożu transportowym. Probówkę szczelnie zakręcić.
- 6) Probówki z wymazówkami umieścić w statywie w pozycji pionowej. Materiał przygotować do transportu.

Uwagi:


- *Przed pobraniem materiału ropnego w razie potrzeby można oczyścić miejsce i okolicę pobrania za pomocą sterylnego gazika nasączonego 0,9% NaCl.*

3.2. Zasady ogólne - Pobranie materiału z narządu/ przestrzeni

- 1) Pobrać ropną wydzielinę z drenu umieszczonego w operowanym narządzie/przestrzeni lub tkankę z narządu/operowanej przestrzeni.
- 2) Treść pobrać aseptycznie przez aspirację igłą wprowadzoną jak najgłębiej do światła drenu celem uniknięcia pobrania próbki zanieczyszczonej drobnoustrojami z otoczenia. Należy zaniechać pobierania wymazów ze światła drenów ze względu na ich ograniczoną przydatność diagnostyczną.
- 3) *Pobrany materiał przenieść aseptycznie do plastikowej sterylnej probówki ze szczelnym korkiem lub sterylnego pojemnika ze szczelnym zamknięciem.*
- 4) Wycinki tkanek umieścić w sterylnym pojemniku, dodając ewentualnie niewielką ilość 0,9% NaCl w celu zwilżenia materiału. Pojemnik szczelnie zamknąć.
- 5) Materiał przygotować do transportu.

3.3. Zasady ogólne - Pobranie materiału z ognisk ropnych, pęcherzy, przetok

- 1) Należy pamiętać o większej wartości diagnostycznej materiału płynnego lub tkanki niż wymazu. W przypadku ran przewlekłych powierzchnia zawsze jest skolonizowana, zatem wymaz nie różnicuje pomiędzy kolonizacją, a zakażeniem.
- 2) Materiałem z wyboru jest bioptat tkanki lub materiał uzyskany drogą aspiracji. Jest niedopuszczalne zlecenie do badania mikrobiologicznego odciętych końcówek drenów chirurgicznych, gdyż mogą być łatwo kontaminowane przypadkowymi drobnoustrojami.
- 3) Przy pobieraniu materiału z ropnia zamkniętego po nacięciu ropnia odrzucić pierwszą porcję ropy, drugą porcję zaaspirować do strzykawki z igłą (przy dużej ilości materiału) lub pobrać wysięk sterylnymi wymazówkami i przenieść aseptycznie do odpowiednich podłoży transportowych umożliwiających przetrwanie bakteriom tlenowym oraz beztlenowym. Gdy materiał jest pozyskiwany w trakcie nacięcia chirurgicznego zmiany ropnej należy przesłać do badania również fragment w formie wycinka, ewentualnie wymaz ze ściany ropnia.
- 4) W przypadku powierzchownych zmian z pęcherzami pobrać płyn wysiękowy
- 5) z pęcherza przez aspirację wraz z komórkami z jego dna.
- 6) Przy podejrzeniu Inwazyjnej Choroby Meningokokowej materiał pobrać z wybroczy na skórze przez rozerwanie zmian skórnych lub biopsję.
- 7) Postępować zachowując kolejność czynności opisanych w pkt. **3.1.1-3.1.6.**
- 8) Materiał przygotować do transportu.


| | | |
|---|--|--|
|  <p>Szpital Uniwersytecki w Krakowie</p> | INSTRUKCJA | I-P-ZM-02/07 |
| | Pobieranie i przechowywanie materiałów z ran i materiałów śródoperacyjnych do mikrobiologicznych badań laboratoryjnych. | Wydanie V <i>nr wydania</i> |
| | | 23.02.2024 <i>data opracowania</i> |
| | | Strona: 3 z 6 |

3.4. Zasady ogólne - Pobranie materiału z tkanek miękkich (martwicze zapalenie powięzi, zgorzel gazowa, martwicze zapalenie tkanki podskórnej, zapalenie mięśni, węzłów lub naczyń chłonnych)

- 1) Pobrać ropy wysięk lub fragment tkanki ze zmian.
- 2) Treść płynną pobrać sterylnymi wymazówkami i przenieść aseptycznie do odpowiednich podłoży transportowych umożliwiających przetrwanie bakteriom tlenowym oraz beztlenowym. Postępować zachowując kolejność czynności opisanych w pkt **3.1.1-3.1.6**.
- 3) Wycinki tkanek umieścić w sterylnym pojemniku, dodając ewentualnie niewielką ilość 0,9% NaCl w celu zwilżenia materiału. Pojemnik szczelnie zamknąć.
- 4) Materiał przygotować do transportu.

3.5. Zasady ogólne - Pobranie materiału z odleżyny i owrzodzenia

- 1) Badanie mikrobiologiczne materiału pobranego z tkanek miękkich i skóry nie powinno stanowić kryterium rozpoznania zakażenia.
- 2) Jeżeli wynik badania mikrobiologicznego ma stanowić kryterium rozpoznania zakażenia i decydować o rozpoznaniu infekcji, to jakość pobranego materiału i wykonanie badania ilościowego mają kluczowe znaczenie.
- 3) Materiał na badanie mikrobiologiczne należy pobierać w sposób umożliwiający identyfikację bakterii powodujących zakażenie, a nie jedynie kolonizację.
- 4) Metoda biopsji jest uznana za złoty standard i metodę referencyjną.
- 5) Fragmenty tkanek pobierane chirurgicznie lub za pomocą trepanobiopsji są złotym standardem w uzyskiwaniu posiewów ilościowych materiałów z ran, ze względu na wysoką czułość i specyficzność.
- 6) Ilościowe badanie bioptatu tkanki w kierunku bakterii tlenowych i beztlenowych pozwala na ocenę obecności zakażenia oraz identyfikację czynników etiologicznych.
- 7) Ilościowe badanie wymazu z rany jest wykonywane gdy rozpoznano klinicznie zakażenie i wynik badania jedynie identyfikuje etiologię zakażenia, nie określa czy zakażenie jest obecne.
- 8) Badanie jakościowe przeprowadzone na materiale pobranym w drodze wymazu nie różnicuje między kolonizacją i zakażeniem, prezentuje wyniki fałszywie dodatnie i często jest niezgodne z wynikami badania materiału pobranego drogą biopsji tkanki.
- 9) Materiał pobrany przez łyżeczkowanie głębokich obszarów rany w trakcie oczyszczania lepiej identyfikuje etiologię zakażenia niż wymaz.
- 10) Diagnoza krytycznej kolonizacji rany stawiana jest, gdy po oczyszczeniu rany,
- 11) W biopsji tkanki stwierdzone jest $\geq 10^6$ CFU/1 g tkanki lub 1 ml treści płynnej. Krytyczna kolonizacja oznacza stan, gdy utrudnione jest gojenie się rany z powodu obecności bakterii bez objawów klinicznych zakażenia.
- 12) Pobrać aseptycznie: fragmenty tkanki metodą biopsji po oczyszczeniu rany, bez stosowania środków antyseptycznych i podawania antybiotyków, które utrudniałyby wzrost bakterii lub materiał z łyżeczkowania tkanki w trakcie oczyszczania rany. Wycinki tkanek umieścić


| | | |
|---|--|--|
|  <p>Szpital Uniwersytecki w Krakowie</p> | INSTRUKCJA | I-P-ZM-02/07 |
| | Pobieranie i przechowywanie materiałów z ran i materiałów śródoperacyjnych do mikrobiologicznych badań laboratoryjnych. | Wydanie V <i>nr wydania</i> |
| | | 23.02.2024 <i>data opracowania</i> |
| | | Strona: 4 z 6 |

w sterylnym pojemniku, dodając ewentualnie niewielką ilość 0,9% NaCl w celu zwilżenia materiału. Pojemnik szczelnie zamknąć.

- 13) Jeśli nie jest możliwa biopsja tkanki pobrać wymaz z rany metodą Lewine'a do badania ilościowego. Oczyszczyć mechanicznie przewleklą zmianę skórą z martwych tkanek przez przepłukanie roztworem soli fizjologicznej. Wysuszyć przy użyciu jałowej gazy. Pobrać wymaz z łoży rany z miejsca, które wygląda najbardziej zdrowo. Wymaz pobrać poprzez rolowanie końcówki wymazówki na powierzchni 1 cm² z uciskiem, tak aby uzyskać wypływ płynu tkankowego. Nie zaleca się przecierania większych obszarów rany metodą zyg-zag. Nie należy wymazywać ropy wysięku. Treść pobrać sterylnymi wymazówkami i przenieść aseptycznie do odpowiednich podłoży transportowych umożliwiających przetrwanie bakteriom tlenowym oraz beztlenowym.
- 14) Postępować zachowując kolejność czynności opisanych w pkt. **3.1.1-3.1.6.**
- 15) Materiał przygotować do transportu.

3.6. Zasady ogólne - Pobranie materiału ze stopy cukrzycowej

- 1) Diagnoza zakażenia tkanek miękkich stopy cukrzycowej stawiana jest na podstawie obrazu klinicznego.
- 2) Badanie mikrobiologiczne materiału pobranego z tkanek miękkich i skóry nie powinno stanowić kryterium rozpoznania zakażenia. Dodatni wynik badania mikrobiologicznego określa jedynie etiologię zakażenia.
- 3) Materiał do badania mikrobiologicznego pobierany jest w sposób umożliwiający identyfikację bakterii powodujących zakażenie, a nie jedynie kolonizację
- 4) Materiał do badania mikrobiologicznego pobierany jest w celu identyfikacji czynników etiologicznych zakażenia, w przypadku zakażenia tkanek miękkich i skóry oraz zakażenia kości stopy cukrzycowej.
- 5) Odstąpienie od wykonania badania mikrobiologicznego, jest dopuszczalne jedynie w sytuacji pierwszego epizodu infekcji tj. w łagodnych zakażeniach bez obecności owrzodzenia lub z krótkotrwałym owrzodzeniem, gdy pacjent nie był jeszcze leczony antybiotykami z powodu powstania zmian skórnych stopy.
- 6) Badaniem mikrobiologicznym z wyboru powinna być biopsja lub łyżeczkowanie tkanki.
- 7) Wymaz z dna rany może skutecznie identyfikować florę patogenną. Wymaz ten ma zastosowanie jedynie w przypadku zakażeń powierzchownych i niedochodzących do kości.
- 8) Wymaz powierzchniowy ma małą wartość diagnostyczną, w większości przypadków identyfikuje etiologię zakażenia, ale także drobnoustroje kolonizujące ranę. Wynik posiewu nie powinien stanowić podstawy wyboru antybiotyku do terapii zakażenia stopy cukrzycowej.
- 9) Materiał diagnostyczny można uzyskać przez pobranie:
- 10) Fragmentów tkanki metodą biopsji oraz aspiracji treści płynnej (2-3 próbki tkankowe z dna owrzodzenia),
- 11) Materiału z łyżeczkowania głębokiego tkanki w trakcie oczyszczania.

| | | |
|---|--|--|
|  <p>Szpital Uniwersytecki w Krakowie</p> | INSTRUKCJA | I-P-ZM-02/07 |
| | Pobieranie i przechowywanie materiałów z ran i materiałów śródoperacyjnych do mikrobiologicznych badań laboratoryjnych. | Wydanie V <i>nr wydania</i> |
| | | 23.02.2024 <i>data opracowania</i> |
| | | Strona: 5 z 6 |

- 12) Wycinki tkanek umieścić w sterylnym pojemniku, dodając ewentualnie niewielką ilość 0,9% NaCl w celu zwilżenia materiału. Pojemnik szczelnie zamknąć,
- 13) Jeżeli nie jest możliwe pobranie materiału drogą biopsji pobrać:
- 14) Wymaz z dna rany po jej oczyszczeniu, kierując wymazówką ruchem rotacyjnym,
- 15) Wymaz powierzchniowy z rany.
- 16) Materiał przygotować do transportu.

3.7. Zasady ogólne - Pobranie wymazu śródoperacyjnego, tkanka z narządu/ operowanej przestrzeni


- 1) Przed pobraniem materiału osoby dokonujące pobrania i zajmujące się transportem materiału powinny przygotować się według poniższych zasad:
- 2) jeśli pobrania dokonuje członek zespołu operacyjnego, zaleca się, aby przed samym pobraniem dokonał zmiany rękawiczek chirurgicznych;
- 3) jeśli pobrania dokonuje osoba spoza zespołu operacyjnego, przed wejściem na salę operacyjną musi przygotować się (ubiór, rękawiczki itd.) tak samo, jak członkowie zespołu operacyjnego (zgodnie ze stosownymi instrukcjami);
- 4) osoba wchodząca na salę operacyjną w celu zabrania już pobranego materiału musi przygotować się tak, jak osoby wchodzące na salę operacyjną nienależące do zespołu operacyjnego (zgodnie ze stosownymi instrukcjami).
- 5) W przypadku wykonania wymazu śródoperacyjnego flokowaną wymazówką pobrać materiał w trakcie zabiegu. Postępować zachowując kolejność czynności opisanych w pkt. **3.1.1-3.1.6**.
- 6) Fragment tkanki umieścić w sterylnym, szczelnie zamykanym pojemniku, dodając ewentualnie niewielką ilość 0,9% NaCl w celu zwilżenia materiału.
- 7) Materiał przygotować do transportu.

3.8. Zasady ogólne - Pobranie materiału w kierunku *Clostridium perfringens* /*Actinomyces*

- 1) Materiał do badania mikrobiologicznego pobrać na wymazówkę z podłożem transportowym. Postępować zachowując kolejność czynności opisanych w pkt. **3.1.1-3.1.6**.
- 2) W celu wykonania preparatu bezpośredniego barwionego metodą Grama należy dodatkowo pobrać wymaz na tzw. suchą wymazówkę i umieścić ją w próbówce bez podłoża transportowego.
- 3) Materiał przygotować do transportu.

3.9. Zasady ogólne - Pobranie jałowych płynów ustrojowych (płynu stawowego, płynu owodniowego, osierdziowego)

- 1) Jałowe płyny ustrojowe pobrać zgodnie z obowiązującymi procedurami wewnętrznymi.
- 2) Materiał do badania mikrobiologicznego zabezpieczyć na podłożu BacT/ALERT FA Plus w kierunku bakterii tlenowych i grzybów drożdżopodobnych oraz na podłożu BacT/ALERT FN Plus w kierunku bakterii beztlenowych zgodnie z procedurą I-P-ZM-02/01.
- 3) Materiał przygotować do transportu.

| | | |
|--|--|--|
|  Szpital Uniwersytecki w Krakowie | INSTRUKCJA | I-P-ZM-02/07 |
| | Pobieranie i przechowywanie materiałów z ran i materiałów śródoperacyjnych do mikrobiologicznych badań laboratoryjnych. | Wydanie V <i>nr wydania</i> |
| | | 23.02.2024 <i>data opracowania</i> |
| | | Strona: 6 z 6 |

3.10. Czas dostarczenia

- 1) Fragmenty tkanek, aspiraty oraz materiał pobrany wymazówką bez następnego zabezpieczenia w podłożu transportowym (preparat) dostarczyć bezpośrednio po uzyskaniu w czasie nie przekraczającym 1 godz.
- 2) Próbki zabezpieczone w podłożu transportowym przesłać w możliwie najkrótszym czasie, nie przekraczającym 5-8 godz. od momentu pobrania.

3.11. Warunki przechowywania

- 1) Do czasu transportu pobrany materiał pozostawić w temperaturze pokojowej (15°C-25°C).