 <p>Szpital Uniwersytecki w Krakowie</p>	INSTRUKCJA	I-P-ZM-02/09
	Pobieranie i przechowywanie materiałów z dróg moczowo-płciowych do mikrobiologicznych badań laboratoryjnych oraz pobieranie materiałów do mikrobiologicznych badań przesiewowych (VRE,GBS,CPE)	Wydanie V <i>nr wydania</i>
		23.02.2024 <i>data opracowania</i>
		Strona: 1 z 7

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. Drogi moczowo-płciowe - zbiorcze określenie układów moczowego i rozrodczego.

2.2. GBS – ang. Group B *Streptococcus*; paciorkowiec β -hemolizujący z gatunku *Streptococcus agalactiae* zaliczany do grupy serologicznej B.

2.3. VRE -szczepy bakterii należące do rodzaju enterokoków, które wykształciły mechanizm oporności na glikopeptydy – wankomycynę albo teikoplaninę

2.4. CPE- pałeczki jelitowe z rodziny *Enterobacteriaceae* wytwarzające karbapenemazy

2.5. Waginoza bakteryjna (BV) – obecność patologicznych bakterii w pochwie w dużych ilościach, z powodu zachwiania się równowagi w ekosystemie pochwy.


2.6. *Chlamydia trachomatis* – Gram-ujemna bakteria wewnątrzkomórkowa. W 70% przypadków powoduje nierzeżączkowe zapalenie cewki moczowej (NGU). Zakażenie następuje drogą kontaktów seksualnych.

2.7. *Neisseria gonorrhoeae* – Gram-ujemna dwójka powodująca rzeżączkę. Zakażenie następuje drogą kontaktów seksualnych.

2.8. Rzeżączka – jest miejscowym zakażeniem, ograniczającym się do cewki moczowej u mężczyzn oraz szyjki macicy i cewki moczowej u kobiet.

2.9. *Ureaplasma urealiticum/Ureaplasma parvum* – bakterie przenoszone drogą płciową. Stanowią czynnik etiologiczny NGU, a ponadto u kobiet odgrywają istotną rolę w stanach zapalnych narządów miednicy mniejszej..

2.10. *Mycoplasma hominis/Mycoplasma genitalium* – atypowe bakterie pozbawione ściany komórkowej. Drogą zakażenia są kontakty płciowe bez stosowania zabezpieczenia. Infekcje mykoplazmatyczne obejmują szyjkę macicy i cewkę moczową. U kobiet może powodować bakteryjną waginozę i zapalenia narządów miednicy mniejszej.

 <p>Szpital Uniwersytecki w Krakowie</p>	INSTRUKCJA	I-P-ZM-02/09
	Pobieranie i przechowywanie materiałów z dróg moczowo-płciowych do mikrobiologicznych badań laboratoryjnych oraz pobieranie materiałów do mikrobiologicznych badań przesiewowych (VRE,GBS,CPE)	Wydanie V nr wydania
		23.02.2024 data opracowania
		Strona: 2 z 7

- 2.11.** HPV, ang. Human Papilloma Virus – wirus brodawczaka ludzkiego – mały bezotoczkowy wirus o dwuniciowym DNA, z genomem o długości około 8000 nukleotydów. Blisko 40 typów wirusa HPV może powodować zakażenia śluzówki odbytu i narządów płciowych człowieka
- 2.12.** Typy wysokiego ryzyka onkogennego, ang. High Risk HPV – 14 typów HR HPV, które stanowią wysokie ryzyko rozwoju raka szyjki macicy (rak płaskonabłonkowy) i zmian prekursorowych, w tym m. in. typy 16, 18, 45
- 2.13.** Rzęsistek pochwy – pierwotniak z grupy wiciowców, pasożyt bytujący w drogach moczowo-płciowych człowieka, powoduje rzęsistkownicę
- 2.14.** PCR, ang. *polimerase chain reaction* – łańcuchowa reakcja polimerazy, technika cyklicznego powielania fragmentów DNA

3. Opis postępowania

3.1. Pobranie w kierunku nosicielstwa VRE, GBS i CPE z odbytu

1) Przygotować:

- rękawice medyczne niesterylne;
- zestaw transportowy: zestaw Fecal Swab / 2 ml płynnego podłoża Cary-Blair z flokowaną wymazówką do pobierania i transportu próbek jelitowych (hodowla i diagnostyka molekularna)

2) Wykonać higieniczną dezynfekcję rąk.

3) Założyć rękawice medyczne niesterylne

4) Wyjąć wymazówkę z opakowania

5) Ostrożnie wprowadzić wymazówkę przez zwieracz odbytu na głębokość 2-5 cm

6) Stosując ucisk rotacyjny pobrać głęboki wymaz z odbytu widocznie zabrudzony kałem.

7) Po pobraniu materiału upewnić się, że na końcówce wymazówki znajduje się wyraźnie widoczna próbka stolca. Jeśli brak, pobranie wymazu należy powtórzyć. Nie pobierać nadmiernej ilości kału.

8) Wymazówkę z widocznym na niej materiałem umieścić w probówce z podłożem transportowym bez dotykania ścianek fiolki.

9) W przypadku zastosowania **zestawu Fecal Swab** sprawdzić wizualnie, czy linia napełniania („MAX FILL”) nie została przekroczona. Jeśli ilość próbki jest zbyt duża i została przekroczona linia napełniania, materiał należy pobrać ponownie przy użyciu nowego **zestawu Fecal Swab**.

10) Zgiąć wymazówkę pod kątem 180 stopni, w celu jej przełamania.


11) Probówkę szczelnie zakręcić.

12) Wstrząsnąć fiolką w celu wypłukania próbki z główki wymazówki i uzyskania jednorodnej fazy płynnej podłoża transportowego,

13) Opisany zestaw przygotować do transportu.

Uwagi:

- *Wskazania do pobierania wymazu z odbytu (poza podejrzeniem czerwonki) są ograniczone do poniżej wymienionych sytuacji:*

 Szpital Uniwersytecki w Krakowie	INSTRUKCJA	I-P-ZM-02/09
	Pobieranie i przechowywanie materiałów z dróg moczowo-płciowych do mikrobiologicznych badań laboratoryjnych oraz pobieranie materiałów do mikrobiologicznych badań przesiewowych (VRE,GBS,CPE)	Wydanie V <i>nr wydania</i>
		23.02.2024 <i>data opracowania</i>
		Strona: 3 z 7

- badanie musi być przeprowadzone jak najwcześniej w celu wszczęcia postępowania przeciwepidemicznego,
- próbka jest pobierana dla celów epidemiologicznych przy przyjmowaniu pacjenta, do szpitala np. wykrywanie nosicielstwa enterokoków opornych na wankomycynę lub wykrywanie nosicielstwa CPE
- próbka jest pobierana do badań przesiewowych w kierunku obecności GBS u kobiet w ciąży,
- u chorego nie można uzyskać próbki kału.

3.2. Pobranie wymazu z pochwy - hodowla


- 1) Przygotować gotowy do użycia **zestaw z żelowym podłożem transportowym** i wymazówką typu standard do pobierania i transportu próbek.
- 2) Przed pobraniem materiału wykonać toaletę krocza.
- 3) Wykonać higieniczną dezynfekcję rąk.
- 4) Założyć rękawice medyczne niesterylne.
- 5) Wprowadzić wziernik jednorazowego użytku. W uzasadnionych przypadkach usunąć nadmiar wydzieliny i śluzu sterylnym gazikiem. Nie stosować środków miejscowo odkażających.
- 6) Standardową wymazówką pobrać wydzielinę/wymaz ze sklepienia pochwy (zwłaszcza z makroskopowo widocznych zmian). Przy podejrzeniu waginozy bakteryjnej (BV) materiał pobrać z przedniego sklepienia pochwy. Podczas pobierania należy zwrócić uwagę, aby nie doszło do kontaktu wymazówki z innymi miejscami, w przeciwnym razie, wskazane jest ponowienie pobrania za pomocą kolejnej wymazówki.
- 7) Materiał z wymazówki nanieść na szkiełko podstawowe.
- 8) Aseptycznie odkręcić korek próbówki i bez dotykania jej ścianek wprowadzić wymazówkę tak, by zanurzyła się w podłożu transportowym.
- 9) Probówkę szczelnie zakręcić.
- 10) Probówkę z materiałem umieścić w statywie w pozycji pionowej.
- 11) Szkiełko podpisać danymi pacjenta, dodać informację odnośnie pH wydzieliny, utrwalić wymaz i umieścić w pojemniku.
- 12) Materiał przygotować do transportu.

Uwagi

- *Za wiarygodny można uznać tylko materiał pobrany przy użyciu wziernika. W przypadku, jeśli z jakichś powodów użycie wziernika jest niemożliwe (np. pacjentka, która nie rozpoczęła życia seksualnego), dopuszczalne jest wyjątkowo pobieranie materiału bez jego zastosowania pod warunkiem zachowania szczególnej staranności, aby nie doszło do kontaminacji próbki; o takiej sytuacji należy poinformować pracownię.*

3.3. Pobranie wydzieliny/wymazu z kanału szyjki macicy / *Neisseria gonorrhoeae*

- 1) Przygotować **zestaw transportowy** z wymazówką typu standard do pobierania i transportu próbek w ciekłym nośniku.
- 2) Wykonać higieniczną dezynfekcję rąk.

 Szpital Uniwersytecki w Krakowie	INSTRUKCJA	I-P-ZM-02/09
	Pobieranie i przechowywanie materiałów z dróg moczowo-płciowych do mikrobiologicznych badań laboratoryjnych oraz pobieranie materiałów do mikrobiologicznych badań przesiewowych (VRE,GBS,CPE)	Wydanie V <i>nr wydania</i>
		23.02.2024 <i>data opracowania</i>
		Strona: 4 z 7

- 3) Założyć rękawice medyczne niesterylne.
- 4) Wprowadzić wziernik jednorazowego użytku.
- 5) Usunąć nadmiar wydzieliny i śluzu sterylnym gazikiem. Oczyszczenie ujścia szyjki macicy z nadmiaru śluzu jest konieczne do uzyskania odpowiedniej jakości próbki.
- 6) Wymazówkę dołączoną do zestawu wprowadzić do kanału szyjki macicy. Pobrać wymaz zawierający komórki nabłonka walcowatego oraz komórki strefy granicznej pomiędzy nabłonkiem płaskim i walcowatym zgodnie z obowiązującym standardem.
- 7) Aseptycznie odkręcić korek probówki i bez dotykania jej ścianek wprowadzić wymazówkę tak, by zanurzyła się w podłożu transportowym.
- 8) Probówkę szczelnie zakręcić.
- 9) Probówkę z materiałem umieścić w statywie w pozycji pionowej.


3.4. Pobranie wydzieliny/wymazu z cewki moczowej / *Neisseria gonorrhoeae*

- 1) Przygotować zestaw transportowy z wymazówką typu mini do pobierania i transportu próbek.
- 2) Wykonać higieniczną dezynfekcję rąk.
- 3) Założyć rękawice medyczne niesterylne.
- 4) W uzasadnionych przypadkach ujście cewki moczowej oczyścić za pomocą sterylnego gazika nasączonego 0,9% NaCl, a następnie osuszyć suchym, sterylnym gazikiem.
- 5) Pobrać wydzielinę z ujścia cewki moczowej za pomocą wymazówki dołączonej do zestawu. W przypadku braku wydzieliny wprowadzić wymazówkę z mini końcówką do światła cewki na głębokość około 2 cm. Pobrać materiał obracając wymazówkę.
- 6) Aseptycznie odkręcić korek probówki i bez dotykania jej ścianek wprowadzić wymazówkę tak, by zanurzyła się w podłożu transportowym.
- 7) Probówkę szczelnie zakręcić.
- 8) Probówkę z materiałem umieścić w statywie w pozycji pionowej.
- 9) Czas dostarczenia -materiał w kierunku *Neisseria gonorrhoeae* w zestawie transportowym oraz pobrany bez zabezpieczenia w podłożu dostarczyć bezpośrednio po uzyskaniu w czasie nie przekraczającym 1 godziny.
- 10) Warunki przechowywania-do czasu transportu materiał pozostawić w temperaturze pokojowej (15°C-25°C).

Uwagi:

*Materiałem do badań w kierunku *Neisseria gonorrhoeae* może być również krew, płyn mózgowo-rdzeniowy, punktaty stawowe, wymaz z odbytu, oraz wymaz z nosogardzieli.*

3.5. Pobranie w kierunku *Neisseria gonorrhoeae/Chlamydia trachomatis* DNA *Mycoplasma hominis/Mycoplasma genitalium/Ureaplasma urealiticum/parvum* DNA – badanie molekularne Przygotować jeden z dostępnych zestawów:

 Szpital Uniwersytecki w Krakowie	INSTRUKCJA	I-P-ZM-02/09
	Pobieranie i przechowywanie materiałów z dróg moczowo-płciowych do mikrobiologicznych badań laboratoryjnych oraz pobieranie materiałów do mikrobiologicznych badań przesiewowych (VRE,GBS,CPE)	Wydanie V <i>nr wydania</i>
		23.02.2024 <i>data opracowania</i>
		Strona: 5 z 7


- 1) Płynne podłoże transportowe UTM-RT 3 ml z wymazówką (wymaz z cewki moczowej, szyjki macicy, pochwy) - postępować zgodnie z ogólnymi procedurami obowiązującymi w Szpitalu Uniwersyteckim
- 2) Jałowy pojemnik (mocz) - Postępować zgodnie z Instrukcją: **I-P-ZM-02/03, pkt. 3.2.**
- 3) Czas dostarczenia- próbkę moczu dostarczyć w możliwie najkrótszym czasie od pobrania
- 4) Warunki przechowywania:
 Wymazy w podłożu transportowym pozostają stabilne w temperaturze:
 - 2°C do 8°C do 72 godzin
 - -70°C powyżej 72 godzin
 - -mocz można przechowywać w temperaturze 2°C do 8°C do 7 dni.

Uwagi:

- *Chlamydie są patogenami wewnątrzkomórkowymi, stąd kluczowe znaczenie ma uzyskanie odpowiednich tj. wartościowych diagnostycznie próbek. Powinny to być zakażone komórki nabłonkowe bez domieszki ropnej wydzieliny, płynu wysiękowego i śluzu;*
- *Infekcja w kanale szyjki macicy podlega zmianom związanym z cyklem miesięcznym. Unikać pobrania w środku cyklu i w czasie miesiączkowania;*
- *W uzasadnionych klinicznie przypadkach materiałem do badań diagnostycznych mogą być także: mocz, nasienie, wydzielina ze spojówek, krew, płyn stawowy, płyn owodniowy, wymaz z gardła.*

3.6. Pobranie w kierunku *Mycoplasma hominis/Ureaplasma urealyticum* – testy hodowla

- 1) Do badania przeznaczyć próbki materiałów z dróg moczowo-płciowych:
 - a) Wydzielina / wymaz z kanału szyjki macicy
 - Wykonać higieniczną dezynfekcję rąk.
 - Założyć rękawice medyczne niesterylne.
 - Wprowadzić wziernik jednorazowego użytku.
 - W uzasadnionych przypadkach usunąć nadmiar wydzieliny i śluzu. Nie stosować środków miejscowo odkażających.
 - Sterylną wymazówką pobrać wydzielinę z kanału szyjki macicy.
 - Natychmiast po pobraniu końcówkę wymazówki umieścić w 2 ml (200 µl) podłoża Mycoplasma R1 3.1 ml (złamać trzonek wymazówki).
 - b) Wydzielina/wymaz z cewki moczowej
 - Wykonać higieniczną dezynfekcję rąk.
 - Założyć rękawice medyczne niesterylne.
 - W uzasadnionych przypadkach ujście cewki moczowej oczyścić za pomocą sterylnego gazika nasączonego 0,9% NaCl, a następnie osuszyć suchym, sterylnym gazikiem.
 - Pobrać wydzielinę z ujścia cewki moczowej za pomocą wymazówki z końcówką typu mini. W przypadku braku wydzieliny wprowadzić elastyczną wymazówkę z mini

 Szpital Uniwersytecki w Krakowie	INSTRUKCJA	I-P-ZM-02/09
	Pobieranie i przechowywanie materiałów z dróg moczowo-płciowych do mikrobiologicznych badań laboratoryjnych oraz pobieranie materiałów do mikrobiologicznych badań przesiewowych (VRE,GBS,CPE)	Wydanie V <i>nr wydania</i>
		23.02.2024 <i>data opracowania</i>
		Strona: 6 z 7

końcówką do światła cewki na głębokość ok. 2 cm. Pobrać materiał obracając wymazówkę.

- Natychmiast po pobraniu końcówkę wymazówki umieścić w 2 ml (200 µl) podłoża Mycoplasma R1 3.1 ml (złamać trzonek wymazówki).

Uwagi:

- *Z powodu ścisłej adherencji mykoplazm do komórek nabłonkowych wartościowe diagnostycznie są próbki zawierające dostatecznie dużą liczbę komórek*
- *Do prawidłowego pobrania materiału zaleca się specjalne wymazówki (cytobrush lub Bactopick)*
- *Ze względu na przyleganie mykoplazm do komórek, najlepszymi materiałami z dróg moczowo-płciowych są materiały zawierające komórki nabłonkowe: wymazy z cewki moczowej i szyjki macicy*
- *W uzasadnionych klinicznie przypadkach materiałem do badań diagnostycznych mogą być także:*
 - *Wymaz z nosogardła*
 - *popłuczyny oskrzelowe od noworodków*
 - *zeskrobiny ze spojówek u noworodków*
 - *mocz z „pierwszego strumienia”*
 - *nasienie*
 - *płyn mózgowo-rdzeniowy*
 - *płyn stawowy*

2) Czas dostarczenia

Optymalnie materiał dostarczyć w ciągu 1-2 godz. od pobrania (w możliwie najkrótszym czasie pobrania)

3) Warunki przechowywania


Dopuszcza się przechowywanie próbek wyłącznie po wprowadzeniu materiału do podłoża Mycoplasma R1 3.1 ml. Po inokulacji podłoże można przechowywać:

- 48 godz. w temperaturze pokojowej od +18°C do +25°C
- 72 godz. w temperaturze od +2°C do + 8°C
- 6 miesięcy, zamrożone w temperaturze - 20°C

3.7. Pobieranie materiału w kierunku HPV DNA

1) Szyjka macicy

- a) Do badania przeznaczyć próbki materiałów z szyjki macicy pobrane do podłoża transportowego BD SurePath Collection Vial.
- b) Wykonać higieniczną dezynfekcję rąk.
- c) Założyć rękawice medyczne niesterylne.

 Szpital Uniwersytecki w Krakowie	INSTRUKCJA	I-P-ZM-02/09
	Pobieranie i przechowywanie materiałów z dróg moczowo-płciowych do mikrobiologicznych badań laboratoryjnych oraz pobieranie materiałów do mikrobiologicznych badań przesiewowych (VRE,GBS,CPE)	Wydanie V <i>nr wydania</i>
		23.02.2024 <i>data opracowania</i>
		Strona: 7 z 7

- d) Wprowadzić wziernik jednorazowego użytku.
- e) Opisać etykietę pojemnika (dane pacjenta).
- f) Dopasowaną anatomicznie do kształtu tarczy szyjki macicy szczoteczkę wprowadzić tak, aby pobranie objęło widoczną powierzchnię oraz ujście kanału szyjki macicy.
- g) Lekko ucisnąć i utrzymując nacisk obrócić 5-krotnie szczoteczkę zgodnie z ruchem wskazówek zegara.
- h) Szczoteczkę niezwłocznie zanurzyć w utrwalczu znajdującym się w pojemniku.
- i) Zanurzoną końcówkę przycisnąć 10-krotnie do dna pojemnika i obracać szczoteczką kilkakrotnie w obydwie strony celem przeniesienia materiału do utrwalcza.
- j) Wyrzucić szczoteczkę. Nie pozostawiać końcówki szczoteczki w pojemniku.
- k) Pojemnik szczelnie zamknąć.

Uwagi:

- *Do pobierania materiałów stosować wyłącznie zestaw dostępny w ZM;*
- *Szczoteczka jest przeznaczona wyłącznie do jednorazowego użycia przez wykwalifikowany personel medyczny;*
- *Nie stosować u pacjentek powyżej 10 tygodnia ciąży;*
- *Nie używać w przypadku stwierdzenia uszkodzeń;*
- *Pojemnik z podłożem zawiera substancje szkodliwe, chronić przed wyciekami.*

2) Odbyt, policzek, cewka moczowa i pochwa

Postępować zgodnie z ogólnymi procedurami obowiązującymi w Szpitalu Uniwersyteckim

3) Warunki transportowania i przechowywania

- a) Próbki z szyjki macicy pobrane do podłoża transportowego BD SurePath Collection Vial. transportować w temperaturze od 2°C - 30°C.
- b) Próbki z szyjki macicy pobrane do podłoża transportowego BD SurePath Collection Vial. Przechowywać w temperaturze od 2°C do 25°C przez maksymalnie 30 dni od daty pobrania (zgodnie z zaleceniami producenta w/w podłoża transportowego).