

NARODOWY INSTYTUT LEKÓW

INSTRUKCJA OPERACYJNA TECHNICZNA

Nr egzemplarza: 1

Nr: ZE/IT 5.8/005

Wydanie: 1

TYTUŁ: Zasady pobierania próbek do badań referencyjnych wykonywanych w KOROUN

Data wydania: 07.01.2020

Strona: 1/ 4

Cel instrukcji

Celem instrukcji jest przedstawienie prawidłowego sposobu pobierania próbek do badań referencyjnych wykonywanych w Krajowym Ośrodku Referencyjnym ds. Diagnostyki Bakteryjnych Zakażeń Ośrodkowego Układu Nerwowego (KOROUN).

Zakres stosowania

Niniejsza instrukcja obowiązuje w medycznych laboratoriach diagnostycznych podczas pobierania próbek do badań referencyjnych wykonywanych w KOROUN

Przedmiot postępowania**KOROUN przyjmuje do badań referencyjnych próbki biologiczne takie jak:**

- izolaty (szczepy) bakterii wyhodowane podczas rutynowych badań mikrobiologicznych w medycznych laboratoriach diagnostycznych (MLD) z materiałów klinicznych pacjenta z zakażeniem inwazyjnym,
- materiał kliniczny pobrany bezpośrednio od pacjenta z podejrzeniem zakażenia inwazyjnego,
- materiał śródsekcijny pobrany po śmierci pacjenta.

Sposób postępowania:**1. Pobieranie próbek izolatów (szczepów) bakteryjnych**

- a) Do badań referencyjnych należy przysyłać izolaty bakteryjne wyhodowane z materiałów klinicznych od pacjentów z zakażeniami inwazyjnymi nabytymi poza szpitalem, następujących gatunków:
 - *Neisseria meningitidis*,
 - *Streptococcus pneumoniae*,
 - *Haemophilus influenzae*,
 - *Streptococcus agalactiae*,
 - *Streptococcus pyogenes*,
 - *Listeria monocytogenes*,
 - *Escherichia coli* (tylko izolaty inwazyjne wyhodowane od noworodków).
- b) W celu zwiększenia możliwości diagnostycznych badań referencyjnych, **wszystkie izolaty należy przysyłać:**
 - na płytce Petriego na odpowiednim podłożu **oraz**
 - na wymazówce w podłożu transportowym, np. w podłożu Amies z węglem.
- c) **Na płytce Petriego oraz na wymazówce należy przysyłać świeżą, czystą hodowlę.**
- d) Izolat do podłoża transportowego należy pobierać zwracając szczególną uwagę na czystość pobrania.
- e) Od dnia wysłania izolatu do KOROUN, laboratorium zabezpiecza jego żywotność tak, aby była możliwość ponownego przesłania izolatu do KOROUN:

INSTRUKCJA Nr: ZE/IT 5.8/005 TYTUŁ: Zasady pobierania próbek do badań referencyjnych wykonywanych w KOROUN	Nr egzemplarza: 1
	Wydanie: 1
	Strona: 2/ 4

- zleceniodawcy z Warszawy i okolic - przez okres do 2 dni,
- pozostali zleceniodawcy – przez okres do 5 dni.

f) W przypadku nieudanego ożywienia izolatu, pracownik KOROUN telefonicznie poinformuje Laboratorium zlecające o konieczności ponownego przesłania szczepu do KOROUN.

UWAGA KOROUN wymaga przesyłania szczepów do badań referencyjnych na dwóch podłożach, ponieważ:

- zastosowanie podłoża transportowego, w większości przypadków zapewnia ożywienie izolatu,
- w przypadku, gdy w KOROUN nie ożywiono izolatu i nie ma możliwości jego ponownego przesłania, izolat można zidentyfikować i określić jego serotyp lub grupę serologiczną metodą niehodowlaną, tj. metodą PCR z martwej masy bakteryjnej zebranej z podłoża na płytce Petriego.

2. Pobieranie materiałów biologicznych (klinicznych) od pacjentów

a) Materiał biologiczny do badań referencyjnych metodą PCR stanowią:

- krew,
- płyn mózgowo-rdzeniowy (PMR),
- płyny z jam ciała.

b) Wszystkie próbki materiałów biologicznych pobierane są zgodnie z procedurami obowiązującymi w oddziałach szpitala.

UWAGA Stosowany sposób pobierania materiału do badań nie może zmieniać jego właściwości.

c) Objętość próbki lub pojemnika powinna być dobrana do objętości materiału. Należy unikać przesyłania bardzo małych objętości płynów (np. krew, PMR) w dużych próbkach lub pojemnikach.

d) Materiał należy pobierać przed podaniem pierwszej dawki antybiotyku.

e) Jeśli pacjent jest w trakcie antybiotykoterapii, materiał należy pobrać przed kolejną dawką leku, jednak nie później niż w ciągu 72 godzin od włączenia antybiotykoterapii.

f) Każdorazowo, przed rozpoczęciem rutynowych badań mikrobiologicznych próbek pacjentów z podejrzeniem zakażenia inwazyjnego, laboratorium powinno zabezpieczyć odpowiednią objętość materiału klinicznego do badań referencyjnych metodą PCR:

- PMR: nie mniej niż 200 µl,
- krew pełna pobrana na antykoagulant (np. EDTA, cytrynian, heparyna): 1,5-3 ml,
- surowicę krwi: 2 ml,
- płyn z opłucnej, płyn z otrzewnej, płyn stawowy: nie mniej niż 200 µl.

UWAGA Przesłanie większej objętości próbki umożliwia ewentualne powtórzenie badania oraz rozszerzenie zakresu badań referencyjnych.

a) Jeśli w MLD, wynik oceny mikroskopowej preparatu bezpośredniego jest ujemny oraz po dobie hodowli nie stwierdzono wzrostu drobnoustrojów, do KOROUN należy przesłać zabezpieczone próbki przeznaczone do badań referencyjnych metodą PCR.

3. Pobieranie materiałów śródsekcyjnych

INSTRUKCJA Nr: ZE/IT 5.8/005 TYTUŁ: Zasady pobierania próbek do badań referencyjnych wykonywanych w KOROUN	Nr egzemplarza: 1
	Wydanie: 1
	Strona: 3/ 4

- a) Jeśli przed ustaleniem etiologii, zakażenie doprowadzi do zgonu pacjenta, do badań referencyjnych w KOROUN należy przestać materiały pobrane śródsekcyjnie.
- b) Materiał należy pobierać niezwłocznie po zgonie pacjenta, z co najmniej dwóch różnych tkanek/narządów.
- c) Wszystkie próbki śródsekcyjne należy pobierać unikając kontaminacji - przy użyciu jałowego sprzętu/narzędzi i do jałowych pojemników.
- d) W przypadku materiałów pobieranych śródsekcyjnie należy pobrać:
 - krew z komór serca: 2-3 ml od osób dorosłych oraz 0,5-1 ml od noworodków,
 - PMR: nie mniej niż 200 µl ,
 - skrawki śledziony, wątroby, nerek lub innych zmienionych chorobowo narządów: o wielkości ok. 0,5 x 0,5 x 0,5 cm,
 - drobne fragmenty zmienionej chorobowo skóry.

UWAGA Należy pamiętać, że identyfikacja rzeczywistych bakteryjnych czynników etiologicznych zakażenia w materiałach śródsekcyjnych jest trudna i często kończy się niepowodzeniem z powodu kontaminacji próbek florą endogenną. W krótkim czasie po zgonie pacjenta może dojść i zazwyczaj dochodzi do namnażania i przemieszczania się flory endogennej, która nie była przyczyną zakażenia/zgonu. Dlatego, materiał powinien być pobierany jak do rutynowych badań mikrobiologicznych, możliwie szybko po zgonie i jak najszybciej dostarczony na badania.

4. Oznakowywanie próbek

- a) Płytkę Petriego oraz wymazówkę z izolatem należy czytelnie podpisać numerem oryginalnym izolatu identycznym jak na formularzu zlecenia badania referencyjnego.
- b) Próbki biologiczne pobierane bezpośrednio od pacjentów lub pobierane śródsekcyjnie należy opisać na etykiecie podając:
 - imię i nazwisko pacjenta lub inicjały,
 - nazwę materiału,
 - datę i godzinę pobrania materiału.

5. Formularz zlecenia badania referencyjnego

- a) Do każdej próbki, należy dołączyć wypełniony formularz zlecenia badania referencyjnego wykonywanego przez KOROUN.
- b) Na formularzu zlecenia należy zamieścić:
 - dane dotyczące/identyfikujące pacjenta,
 - dane dotyczące zastosowanej terapii,
 - dane dotyczące materiału do badań,
 - dane teleadresowe jednostki zlecającej i osoby upoważnionej do otrzymania wyniku badania.
- c) Formularz zlecenia badania referencyjnego znajduje się na stronie internetowej KOROUN (www.koroun.edu.pl).

INSTRUKCJA Nr: ZE/IT 5.8/005 TYTUŁ: Zasady pobierania próbek do badań referencyjnych wykonywanych w KOROUN	Nr egzemplarza: 1
	Wydanie: 1
	Strona: 4/ 4

- d) Szczegółowy opis poprawnego wypełniania formularza zlecenia badania przedstawia instrukcja ZE/IT 5.10/006.

6. Przechowywanie próbek przed wysłaniem do KOROUN

- a) Szczepy bakteryjne na płytkach Petriego oraz w podłożu transportowym należy przechowywać w temperaturze pokojowej zgodnie z instrukcją producenta podłoża i jak najszybciej przesłać do KOROUN.
- b) Materiały biologiczne (kliniczne) pobrane od pacjenta należy przechowywać w temperaturze lodówki do 7 dni od pobrania. W przypadku dłuższego przechowywania, materiał należy zamrozić w temperaturze -20°C lub niższej.
- c) Materiały pobrane śródsekcjnie należy przechowywać w temperaturze lodówki do 2 dni od pobrania. W przypadku dłuższego przechowywania, materiał należy zamrozić w temperaturze -20°C lub niższej.

7. Kryteria przyjęcia próbek do badań referencyjnych w KOROUN

KOROUN może nie podjąć czynności wykonania badań referencyjnych próbek:

- nieidentyfikowalnych (niewłaściwie oznakowanych, których nie można powiązać z danymi ze zlecenia),
- o zbyt małej objętości,
- zniszczonych (rozlanych, wyschniętych, uszkodzonych),
- nieprawidłowo transportowanych - czas transportu przekraczający dwie doby, zbyt wysoka lub zbyt niska temperatura transportu,
- pobranych na niewłaściwe podłoże,
- bez zlecenia badania,
- nieprawidłowo pobranych (sucha wymazówka),
- pobranych w niewłaściwym czasie od rozpoczęcia antybiotykoterapii.

Odsyłacze:

1. Instrukcja *operacyjna standardowa nr ZE/IT 5.8/006 „Wypełnianie zlecenia badania referencyjnego wykonywanego w KOROUN”*

Załączniki:

1. *Zlecenie badania referencyjnego w KOROUN – wzór formularza*

KONIEC