

## INSTRUKCJA ROBOCZA NR PO-03/IR-11

**Pobieranie i transport próbek materiału biologicznego  
do badań w kierunku chorobotwórczych pałeczek jelitowych**

Zarządzający:

KIEROWNIK  
Medycznego Laboratorium  
Diagnostycznego  
mgr Iwona Fidura

Zatwierdzam:

PAŃSTWOWY POWIATOWY  
INSPEKTOR SANITARNY  
w Łomży

dr n. med. Przemysław Gosk

## 1. Przedmiot instrukcji

Przedmiotem instrukcji jest ustalenie jednolitego sposobu postępowania dotyczącego czynności przedanalizacyjnych związanych z pobieraniem i transportowaniem próbek materiału biologicznego do badań w kierunku chorobotwórczych pałeczek jelitowych.

## 2. Zakres stosowania instrukcji

Instrukcja obowiązuje wszystkich klientów laboratorium PSSE w Łomży pobierających i transportujących próbki materiału biologicznego do badań w kierunku chorobotwórczych pałeczek jelitowych.

## 3. Odpowiedzialność

**3.1** Za udostępnienie instrukcji, niezbędnych materiałów do pobierania próbek oraz nadzór nad stosowaniem instrukcji odpowiada kierownik techniczny Medycznego Laboratorium Diagnostycznego PSSE w Łomży.

**3.2** Za wdrożenie niniejszej instrukcji odpowiadają właściwi kierownicy Sekcji Epidemiologii PSSE współpracujących z laboratorium.

**3.3** Za stosowanie instrukcji odpowiedzialność ponoszą wszyscy użytkownicy instrukcji.

## 4. Materiał do badań

**4.1** Kał /wymaz z odbytu/szczep bakteryjny.

**4.2** W większości przypadków najlepszym materiałem do badania jest próbka świeżo oddanego kału, zwłaszcza te fragmenty stolca, które zawierają pasma śluzu, krew lub ropę. Przy wystąpieniu klinicznych objawów czerwonych wywołanych przez drobnoustroje inwazyjne (*Shigella*, *P.shigelloides*, *E. coli*) lepszym materiałem do badania jest wymaz z odbytu.

## 5. Sprzęt i materiały pomocnicze stosowane do pobierania i transportu próbek.

- jałowe, szczelnie zamykane, plastikowe pojemniki na kał,
- podłoża transportowe (Stuarta, Carry-Blaira lub Amiesa),
- podłoża transportowe z węglem (Stuarta z węglem lub Amiesa z węglem),
- jałowe wymazówki,
- jałowy roztwór 0,85% NaCl,
- torba izotermiczna utrzymującą temperaturę pokojową (20-25)°C do transportu próbek do laboratorium (zabezpieczającą próbki przed zanieczyszczeniem lub utratą ich właściwości),
- pojemnik lub zbiorcze opakowanie przeznaczone do transportu próbek (wykonane z materiału podlegającego skutecznej dezynfekcji, szczelnie zamykane, dostatecznie duże, tak skonstruowane i wyposażone, aby pojemniki z próbkami podczas transportu nie uległy uszkodzeniu, np. z przegródkami),
- preparaty do dezynfekcji rąk np. Skinman, Manusan,
- preparaty do dezynfekcji powierzchni np. Septyl R 2,5%,
- rękawiczki jednorazowe.

Klienci mogą zaopatrzyć się w pojemniki i odpowiednie podłoża we własnym zakresie lub w laboratorium.

## 6. Środki ostrożności

6.1 Materiał pobierany do badań jest traktowany jako zakaźny.

6.2 Osoba pobierająca przy każdym pacjencie stosuje nową parę rękawiczek jednorazowego użytku tylko w celu pobrania materiału.

6.3 Wszystkie próbki muszą:

- być szczelnie zamknięte i odpowiednio oznakowane: pozwalające na jednoznaczną identyfikację pacjenta np. imię i nazwisko, PESEL, data urodzenia lub nr identyfikacyjny pacjenta podawany w przypadku braku innych danych.
- posiadać prawidłowo wypełnione zlecenie/skierowanie na badanie z wyraźnym zaznaczeniem kierunku badania.

6.4 Materiał do badania jest dostarczany do laboratorium bezpośrednio przez upoważnione osoby, w zamkniętych pojemnikach lub probówkach umieszczonych w zbiorczym opakowaniu oznaczonym napisem „**Materiał zakaźny**”. Indywidualny pacjent (klient) dostarcza materiał bezpośrednio w zamkniętym pojemniku lub próbce z podłożem transportowym dodatkowo zabezpieczonym, np. torebką foliową.

6.5 Transport próbek powinien odbywać się w sposób zapewniający integralność próbki i bezpieczeństwo osób transportujących.

6.6 W przypadku skażenia pojemnika należy go poddać dezynfekcji za pomocą np. 2,5 % roztworu Septylu R. W przypadku skażenia rąk osoby transportującej próbki, odkażenie należy wykonać preparatem do dezynfekcji rąk, np. Skinman-soft.

## 7. Pobieranie materiału do badań laboratoryjnych

7.1 Sposób pobrania materiału nie może zmieniać jego właściwości, ma to decydujący wpływ na końcowy wynik badania laboratoryjnego.

7.2 W przypadku osób chorych próbka jest pobierana jak najszybciej po wystąpieniu objawów choroby, możliwie przed podjęciem leczenia przeciwbakteryjnego. Tryb i terminy przeprowadzania badań określają załączniki numer 1 i numer 2 tej instrukcji.

7.3 Przygotowanie pacjenta: w przypadku pobierania materiału takiego jak: kał, wymazu z odbytu nie ma specjalnych zaleceń dotyczących przygotowania osoby badanej: godziny pobierania należy ustalić tak aby nie przekroczyć maksymalnego czasu od pobrania do dostarczenia materiału do laboratorium.

7.4 Osoba pobierająca weryfikuje tożsamość pacjenta, oznakowuje zgodnie ze zleceniem pojemnik z materiałem, sprawdza zgodność oznakowania ze zleceniem, oraz składa na zleceniu czytelny podpis potwierdzający pobranie materiału wg wymagań laboratorium.

7.5 Pobieranie próbek materiału do badań i warunki przechowywania przed dostarczeniem do laboratorium.

7.5.1 Kał jest pobierany przez pacjenta bądź jego opiekunów lub uprawnionego pracownika medycznego. Wymaz z odbytu jest pobierany przez uprawnionego pracownika medycznego.

**7.5.2 Kał** po oddaniu do czystego, uprzednio wyparzonego wrzątkiem i wysuszonego naczynia: basenu, nocnika lub naczynia jednorazowego użycia (talerza) należy pobrać suchą plastikową szpatułką do jałowego, szczelnie zamykanego, plastikowego pojemnika na kał. Nie wolno pobierać materiału do badania z urządzeń sanitarnych! Dostarczyć do laboratorium w ciągu 2 godzin w temp. otoczenia bez dopuszczenia do zamrożenia. Gdy przewidywany czas dostarczenia próbki do badania wynosi ponad 2 godz. należy pobrać wymaz z kału.

*Gdy przewidywany czas dostarczenia próbki do badania wynosi ponad 2 godz. kał należy pobrać do podłoża transportowego w postaci tzw. wymazu z kału.*

**7.5.3 Kał do podłoża transportowego** należy pobrać jałową wymazówką z kilku miejsc kału przez włożenie do niego wacika umieszczonego na patyczku, obrócenie go kilkakrotnie w materiale kałowym, a następnie umieszczenie w odpowiednim podłożu transportowym. Dostarczyć do laboratorium w ciągu 24 godzin w temp. otoczenia, jeśli nie jest to możliwe, próbki pobrane na podłoże transportowe przechowuje się do 72 godzin w temp. (4-8) °C.

**7.5.4 Wymaz z odbytu** pobrać przez kilkukrotne obrócenie zwilżonej jałowym 0,85% NaCl wymazówki włożonej na głębokość około 5 cm poza zwieracz odbytu, tak aby na waciku znalazły się fragmenty złuszczonego nabłonka końcowego odcinka jelita grubego. Pobraną próbkę umieścić w jałowej probówce i dostarczyć do laboratorium w ciągu 2 godzin. Wymaz z odbytu pobrany na podłoże transportowe dostarczyć do laboratorium w ciągu 24 godzin w temp. otoczenia, jeśli nie jest to możliwe, próbki przechowuje się do 72 godzin w temp. (4-8) °C.

**7.5.5** Próbkę pobrać w ilości wystarczającej do wykonania posiewu na kilka pożywek:

- kał uformowany – wielkość orzecha laskowego (jeśli występują, to z krwią, śluzem i ropą),
- kał całkowicie płynny – (2-5) ml,
- wymaz z odbytu – tak, aby na waciku były złuszczone nabłonki i wyraźne ślady kału.

**7.5.6** Pojemnik z próbką oznakować zgodnie z pkt. 6.3.

**7.5.7** Wyizolowany szczep bakteryjny przesłać w szczelnie zamkniętej probówce zawierającej podłoże do przechowywania szczepów lub na wymazówce z podłożem transportowym. Dopuszcza się przesłanie szczepu na podłożu Kliglera, skosie agarowym lub w postaci hodowli na płytce Petriego. Probówkę bądź płytkę zawinąć w materiał chłonny (wata, bibuła) i umieścić w opakowaniu zapobiegającym uszkodzeniu jego zawartości.

## **8. Pozbywanie się materiałów stosowanych przy pobieraniu próbki**

Materiały medyczne i inne pozostałe po pobraniu próbki są likwidowane zgodnie z obowiązującymi przepisami (przekazywane do spalarni).

## **9. Transport próbek**

**9.1** Czas i warunki, w jakich transportowana jest próbka materiału ma istotny wpływ na wynik badania. Jest to związane z żywotnością i wzajemnym oddziaływaniem występujących w kale drobnoustrojów oraz z wpływem na ich przeżycie procesów chemicznych i biologicznych zachodzących w kale podczas przechowywania.

**9.2** Próbkę po pobraniu należy **niezwłocznie przetransportować do laboratorium** w warunkach zapewniających ich przydatność do badań:

- próbki kału i wymazy z odbytu w ciągu 2 godzin po pobraniu, w temperaturze otoczenia bez dopuszczenia do ich zamrożenia,
- próbki pobrane na podłoże transportowe (kał, wymaz z odbytu, szczep bakteryjny) w ciągu 24 godzin w temperaturze otoczenia bez dopuszczenia do ich zamrożenia, jeśli nie jest to możliwe, próbki pobrane na podłoże transportowe przechowuje się maksymalnie do 72 godzin w temperaturze (4-8) °C,
- szczep bakteryjny – w ciągu 24 godzin w temperaturze otoczenia bez dopuszczenia do zamrożenia.

**9.3** Odpowiedzialność za transport i przechowywanie próbek od momentu ich pobrania do chwili dostarczenia do laboratorium ponosi klient.

## **10. Wykaz dokumentów związanych**

**10.1** PN-EN ISO 15189 Laboratoria medyczne - Wymagania dotyczące jakości i kompetencji

**10.2** Etiologia, obraz kliniczny i diagnostyka ostrych zakażeń i zarażeń przewodu pokarmowego oraz zatruc pokarmowych. Red. JAGIELSKI M., 2010, Fundacja Pro Pharmacia Futura, Warszawa

**10.3** Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 02.02.2006 r. w sprawie badań do celów sanitarno-epidemiologicznych (Dz.U. Nr 25 poz. 191)

**10.4** Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 06.03.2003 r. w sprawie rodzaju badań lekarskich i laboratoryjnych, którym podlegają kobiety w ciąży i noworodki oraz osoby narażone na zakażenie oraz kontakt z osobami zakażonymi, chorymi lub materiałem zakaźnym (Dz.U. Nr 61 poz. 550)

**10.5** Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 23 marca 2006 r. w sprawie standardów jakości dla medycznych laboratoriów diagnostycznych i mikrobiologicznych (Dz.U. Nr 61 poz. 435 ze zm.)

**10.6** Procedura ogólna PO-03 „Pobieranie próbek, postępowanie z próbkami i wykonywanie pomiarów w terenie”.

## **11. Załączniki**

**11.1** Załącznik Nr 1 Tryb i terminy przeprowadzania badań wg Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 02.02.2006 r. w sprawie badań do celów sanitarno-epidemiologicznych (Dz.U. Nr 25 poz.191)

**11.2** Załącznik Nr 2 Tryb i terminy przeprowadzania badań wg Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 06.03.2006 r. w sprawie rodzaju badań lekarskich i laboratoryjnych, którym podlegają kobiety w ciąży i noworodki oraz osoby narażone na zakażenie oraz kontakt z osobami zakażonymi, chorymi lub materiałem zakaźnym (Dz.U. Nr 61 poz. 550)

Opracowała: mgr Grażyna Zaremba

Sprawdziła: mgr Iwona Fidura  
mgr Joanna Alicka-Grała



**Tryb i terminy przeprowadzania badań wg Rozporządzenia Ministra Zdrowia dnia 2 lutego 2006 r. w sprawie badań do celów sanitarno-epidemiologicznych (Dz. U. Nr 25 poz. 191)**

Kierunek badania	Osoby badane	Sposób pobierania próbek	Wynik badania
<p><u>Pateczki duru brzusznego, durów rzekomych A, B i C i inne pateczki z rodzaju Salmonella i Shigella</u></p>	<p>- <u>podjeimujące lub wykonujące pracę przy wykonywaniu, których jest możliwe przeniesienie zakażenia na inne osoby</u></p> <p>- <u>uczniowie szkół lub studenci szkół wyższych kształcących się do wykonywania tych prac, doktoranci.</u></p> <p>Badanie do celów sanitarno-epidemiologicznych przeprowadza się przed:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- podjęciem pracy</li> <li>- rozpoczęciem nauki</li> <li>- ponownym podjęciem pracy lub nauki, po przebyciu zakażenia czynnikiem chorobotwórczym</li> </ul>	<p><b>3 próbki kału pobrane w trzech kolejno następujących po sobie dniach</b></p>	<p>Jeżeli przynajmniej z jednej próbki uzyskany zostanie wynik dodatni, uznaje się że osoba u której przeprowadzono badanie jest identyfikowana jako zakażona odpowiednim czynnikiem chorobotwórczym</p>

Tryb i terminy przeprowadzania badań wg Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 6.03.2003 r. w sprawie rodzajów badań lekarskich i laboratoryjnych, którym podlegają kobiety w ciąży i noworodki oraz osoby narażone na zakażenie przez kontakt z osobami zakażonymi, chorymi lub materiałem zakaźnym. (Dz.U. Nr 61 poz. 550)

Kierunek badania	Osoby badane	Sposób pobierania próbek	Wynik badania
<p><u>Cholera</u> (hodowla przecinkowca z kału i określenie serotypu)</p>	<p><u>Osoby powracające z terenów endemicznego szerzenia się cholery, u których do 7 dni od dnia powrotu wystąpi biegunka</u></p> <hr/> <p><u>Osoby zdrowe, które miały kontakt z osobami chorymi na cholereę</u></p>	<p><b>3 próbki kału</b>, jeśli to możliwe w ciągu trzech kolejnych dni  <b>I próbka kału</b> – w ciągu 1- 4 dni po wystąpieniu biegunki, przed rozpoczęciem antybiotykoterapii</p> <hr/> <p><b>3 próbki kału</b>, jeśli to możliwe w ciągu trzech kolejnych dni, od 14 dnia po zakończeniu antybiotykoterapii</p>	<p>Trzy wyniki ujemne – wykluczają cholereę</p>
	<p><u>Osoby, które były narażone na zakażenie poprzez kontakt z osobami zakażonymi, chorymi lub materiałem zakaźnym</u></p>	<p><b>3 próbki kału</b>, pobrane jeśli to możliwe z trzech kolejnych dni. Próbki dostarczone w ciągu 24 h od pobrania w płynie konserwującym</p>	<p>3 ujemne wyniki wykluczają zakażenie durem brzuszny lub durem rzekomym</p>
<p><u>Dur brzuszny</u>  <u>Dury rzekome A, B i C</u>            (Badania bakteriologiczne kału w kierunku odpowiednich pałeczek Salmonella z uwzględnieniem typowania bakteriofagowego)</p>	<p><u>Chory (u którego podejrzewa się lub rozpoznano dur brzuszny lub dur rzekomy A,B,C) przed wypisaniem ze szpitala</u></p> <hr/> <p><u>Ozdrowieńcy</u>  <u>Nosiciele</u></p>	<p><b>trzykrotne badania</b> na nosicielstwo (<b>kał i moc</b>). I próbka - 7 dni po zakończeniu chemioterapii, jeśli to możliwe w ciągu trzech kolejnych dni</p> <hr/> <p><b>Pięciokrotne badania kału</b> a u osób wydalających pałeczki również z moczem także moczu (3 miesięczna obserwacja)            I próbka - po miesiącu od dnia powiadomienia właściwego Państwowego Inspektora Sanitarnego            II próbka - dwa miesiące od dnia powiadomienia            III, IV, V próbka – w ostatnim tygodniu obserwacji, w trzech kolejno po sobie następujących dniach</p>	<p>Jeżeli przynajmniej z jednej próbki uzyskany zostanie wynik dodatni, uznaje się że osoba u której przeprowadzono badanie jest identyfikowana jako zakażona odpowiednim czynnikiem chorobotwórczym.</p>
<p><u>Shigella</u></p>	<p><u>Chorzy</u></p>	<p><b>Jedna próbka kału</b> pobrana po upływie 7 dni od zakończenia chemioterapii</p>	<p>wynik ujemny – wyklucza Shigellę</p>