

Zalecenia dotyczące pobierania, przechowywania i transportu materiałów klinicznych przeznaczonych do badań diagnostycznych w Laboratorium Zakładu Badania Wirusów Grypy, Krajowy Ośrodek ds. Grypy (obowiązuje od 08.11.2017 r.)

1. Rodzaj materiału klinicznego w zależności od kierunku i metodyki badań

Nr	Badanie (zgodnie z Cennikiem Badań Diagnostycznych Laboratorium Zakładu Badania Wirusów Grypy w NIZP-PZH)	Rodzaj materiału klinicznego*
1.	Oznaczenie poziomu przeciwciał antyhemaglutyninowych w surowicy w kierunku 3 szczepów wirusa grypy typu/podtypu A/H1N1/, A/H3N2/ i B	- surowica krwi ¹ - krew ¹
2.	Wykrywanie wirusa grypy (typ A i B) metodą RT-PCR	- wymaz z gardła ² - wymaz z nosa ²
3.	Wykrywanie wirusa grypy (typ A i B oraz subtypy A/H1N1/, A/H1N1/pdm09, A/H3N2/) metodą RT-PCR	- wymaz z nosogardzieli - popłuczyny z drzewa oskrzelowego ³ - płyn mózgowo-rdzeniowy ⁴
4.	Wykrywanie wirusa grypy (typ A i B) metodą Real-Time RT-PCR	- wysięk z ucha środkowego ⁵
5.	Wykrywanie 15 wirusów oddechowych: grypy typu A i B, wirusa RS typu A i B, parainfluenzy typu 1, 2, 3 i 4, ludzkiego metapneumowirusa (hMPV), adenowirusa, rinowirusa, bocawirusa, coronawirusa 229E/NL63 i OC43/HKU1, bocawirusa oraz enterowirusa metodą PCR	
6.	Wykrywanie wirusa grypy (typy A i B oraz subtypy A/H1N1/, A/H1N1/pdm09, A/H3N2/) metodą RT-PCR.	
7.	Wykrywanie wirusa grypy (typ A i B) metodą immunologiczną (tzw. szybki test) – w przypadku uzyskania dodatniego wyniku badania należy wykonać badanie potwierdzające metodą molekularną	- wymaz z gardła ² - wymaz z nosa ² - wymaz z nosogardzieli

* wykonanie badania w innym materiale (np. *post-mortem*) może być możliwe po wcześniejszym uzgodnieniu z laboratorium

¹dla właściwej interpretacji wyników badanie powinno zostać wykonane dla pary surowic, tj. surowicy z ostrego okresu choroby, a następnie surowicy pobranej w okresie rekonwalescencji

² wskazane jest dostarczenie łączonej próbki do badań, tj. wymazu z gardła wraz z wymazami z nosa

2. Sposób pobrania, przechowywania i transportu materiału klinicznego

Wszystkie materiały powinny być dokładnie, czytelnie i w sposób trwały oznakowane i zawierać informację dotyczącą daty pobrania materiału. Zgodnie ze standardowymi środkami ostrożności wszystkie próbki należy traktować jako materiał potencjalnie zakaźny.

2.1. Surowica krwi lub krew

Pojedyncza próbka może nie stanowić poparcia diagnozy klinicznej dlatego też badanie serologiczne należy wykonać dla pary surowic: z ostrego okresu choroby, a następnie z okresu rekonwalescencji.

Próbka z ostrej fazy choroby powinna być pobrana zaraz po wystąpieniu pierwszych objawów klinicznych, ale nie później niż 7 dni po ich wystąpieniu. Próbki surowicy od rekonwalescentów powinny być pobierane po 2-4 tygodniach od zachorowania.

- Surowica w objętości 0,5 mL - 1 mL:

Krew pobraną „na skrzep” należy odwirować (10 min. 2000 r.p.m.), a następnie uzyskaną surowicę (niezhemolizowaną, bez włókniaka) należy przenieść do jałowej, podpisanej danymi pacjenta oraz datą pobrania materiału, szczelnie zamykanej probówki.

Surowicę należy przechowywać i transportować w temp. chłodni ($5\pm 3^{\circ}\text{C}$) maksymalnie 48 godz. od chwili uzyskania surowicy. Powyżej 48 godz. próbkę należy przechowywać i transportować w stanie zamrożenia.

- Krew pełna w objętości około 5 mL:

Krew pełna pobrana „na skrzep”. Próbkę należy dostarczyć do laboratorium bezzwłocznie w przeciągu 2 h od pobrania.

2.2. Wymaz z gardła, wymaz z nosa, wymaz z nosogardzieli

2.2.1. Materiał najlepiej jest pobrać **do 7 dnia** od momentu wystąpienia objawów choroby. Sposób pobrania wymazów z gardła i nosa opisano w pkt. 2.2.2.

Pobraną materiał należy przechowywać i transportować **w pozycji pionowej w temp. chłodni ($5\pm 3^{\circ}\text{C}$)** i dostarczyć do laboratorium tak szybko jak jest to możliwe, najlepiej w ciągu 24 godz. od chwili pobrania.

Jeśli dostarczenie próbki w takim czasie nie jest możliwe, wówczas z pobranych materiałów musi być przygotowana zawiesina w objętości do 2 mL podłoża transportowego wirusologicznego lub ewentualnie roztworu soli fizjologicznej lub PBS. Zawiesinę należy przygotować w sterylnej, szczelnie zamykanej probówce, nadającej się do mrożenia w temp. -70°C . Do probówki należy przelać płyn, w którym zawieszono są wymazy, a następnie uzupełnić go do objętości nie więcej niż 2 mL podłożem transportowym wirusologicznym lub ewentualnie jałowym PBS lub roztworem soli fizjologicznej. Przygotować zawiesinę poprzez przeniesienie każdego z patyczków wymazowych do probówki i energiczne poruszanie patyczkiem wymazowym, tak by materiał kliniczny obecny na patyczku mógł znaleźć się w ten sposób z roztworze. Zawiesinę taką (bez patyczków wymazowych) należy **zamrozić w temp. -70°C lub niższej** i dostarczyć do laboratorium w warunkach uniemożliwiających rozmrożenie.

2.2.2. Instrukcja pobrania wymazów z gardła i nosa.

NALEŻY STOSOWAĆ WYŁĄCZNIE STERYLNE WYMAZÓWKI, WYKONANE W CAŁOŚCI Z TWORZYWA SZTUCZNEGO, Z WACIKIEM Z WŁÓKNA SYNTETYCZNEGO NP. SZTUCZNY JEDWAB, WISKOZA, DACRON ITP.

WYMAZÓWKI Z DREWNIANYM PATYCZKIEM oraz BAWELNIANYM WACIKIEM MOGĄ ZAWIERAĆ SUBSTANCJE, KTÓRE INAKTYWUJĄ NIEKTÓRE WIRUSY ORAZ HAMUJĄ REAKCJĘ PCR, W ZWIĄZKU Z CZYM NIE NALEŻY ICH UŻYWAĆ.

- a. **wymaz z gardła** – należy poprosić pacjenta o szerokie otwarcie jamy ustnej. Używając szpatułki docisnąć język ku dołowi, co pozwoli uniknąć kontaminacji wymazu śliną i za pomocą suchego sterylnego patyczka wymazowego energicznie potrząść obie powierzchnie migdałków oraz tylną ścianę gardła (bez dotykania powierzchni jamy ustnej) zwracając szczególną uwagę na miejsca zapalnie zmienione. Koniec patyczka wymazowego (tuż przy zakrętce) odłamać. Patyczek wymazowy z pobranym materiałem umieścić następnie w jałowej probówce transportowej (bez dotykania wacikiem jej ścianek), z którą został on dostarczony i do której należy dodać ok. 1-2 mL podłoża transportowego wirusologicznego, ewentualnie soli fizjologicznej lub PBS. Wacik i tylko wacik patyczka wymazowego musi znajdować się w płynie transportowym.

Nie stosować innych podłoży, np. bakteriologicznych (węgiel, agar itp.). Probówkę zakręcić i podpisać (identyfikacja pacjenta/próbki, data pobrania wymazu). Patrz: ryc. 1.



Ryc. 1.

- b. **wymazy z nosa** (z obu nozdrzy) – należy upewnić się czy przed pobraniem materiału pacjent nie wydmuchiwał nosa. W celu pobrania wymazu należy delikatnie odchylić głowę pacjenta do tyłu i przytrzymać za podbródek. Drugą ręką umieścić koniec suchego sterylnego patyczka wymazowego w prawym nozdrzu pacjenta, równoległe do podniebienia. Pozostawić przez kilka sekund,

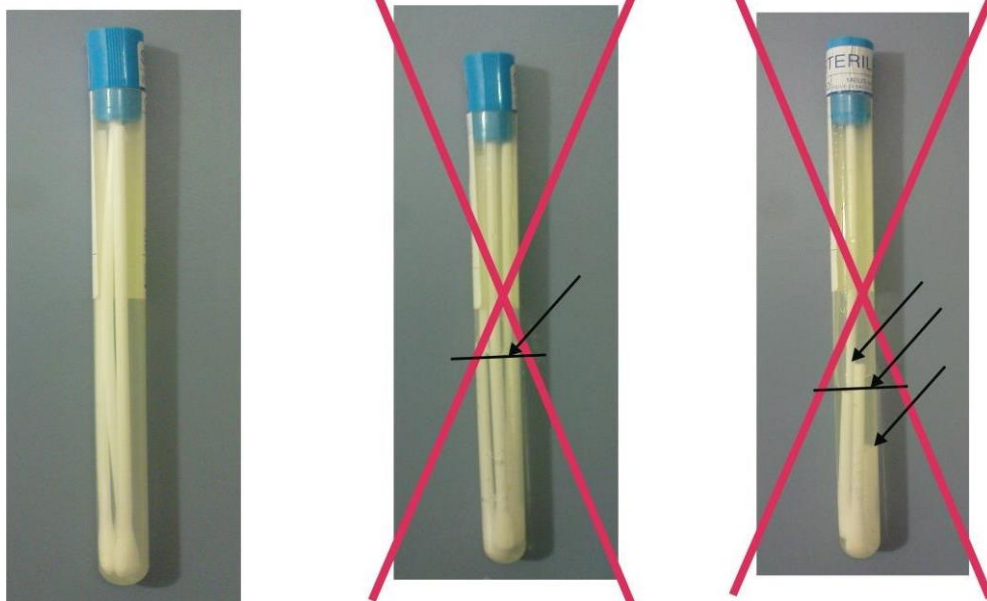
a następnie powolnym ruchem rotacyjnym wyjąć. Koniec patyczka wymazowego (tuż przy zakrętce) odłamać. Patyczek wymazowy umieścić w próbówce, z którą został on dostarczony. Probówkę zakręcić. Wg tej samej procedury za pomocą nowego sterylnego patyczka wymazowego należy pobrać wymaz z lewego nozdrza i umieścić w próbówce, której znajduje się już wymaz z prawego nozdrza. Patrz Ryc. 2.

Do próbki należy dodać ok. 1-2 mL podłoża transportowego wirusologicznego, ewentualnie soli fizjologicznej lub PBS. Waciki i tylko waciki patyczków wymazowych muszą znajdować się w płynie transportowym. Nie stosować innych podłoży, np. bakteriologicznych (węgiel, agar itp.). Probówkę zakręcić i podpisać (identyfikacja pacjenta/próbki, data pobrania wymazów). W ten sposób w jednej próbce znajdują się dwa patyczki wymazowe (Fot. 1).



Ryc. 2.

prawidłowo pobrany wymaz patyczki ułamane przy zakrętce, jedynie zwilżone płynem transportowym
 źle pobrany wymaz za dużo płynu transportowego
 źle pobrany wymaz za dużo płynu transportowego i zbyt krótko ułamane patyczki



Fot. 1.

- c. **łączona próbka wymazu z gardła z wymazami z nosa** – wymazy z gardła i wymazy z obu nozdrzy należy pobrać zgodnie z opisem w pkt. 2.2.2.a i 2.2.2.b. Wszystkie trzy patyczki wymazowe (wymaz z gardła, wymaz z prawego nozdrza, wymaz z lewego nozdrza) umieścić w jednej próbówce, do której dodać ok. 1-2 mL podłoża transportowego wirusologicznego, ewentualnie soli fizjologicznej lub PBS. Waciki i tylko waciki patyczków wymazowych muszą znajdować się w płynie transportowym.
- Nie stosować innych podłoży, np. bakteriologicznych (węgiel, agar itp.). Probówkę zakręcić i podpisać (identyfikacja pacjenta/próbki, data pobrania wymazów). W ten sposób w jednej probówce znajdują się trzy patyczki wymazowe.

2.3. Płuczyny z drzewa oskrzelowego, płyn mózgowo-rdzeniowy

Każdy z wyżej wymienionych materiałów do badań w objętości 1 mL – 2 mL w jałowej zamkniętej probówce należy przechowywać i transportować **w pozycji pionowej w temp. chłodni ($5\pm 3^{\circ}\text{C}$)** i dostarczyć do laboratorium tak szybko jak jest to możliwe, najlepiej w ciągu 24 godz. od chwili pobrania, a jeśli to jest niemożliwe to zamrozić **w temp. -70°C lub niższej**.

2.4. Wysiłek z ucha środkowego

Próbkę wysięku z ucha środkowego w jałowej zamkniętej probówce należy przechowywać i transportować **w pozycji pionowej w temp. chłodni ($5\pm 3^{\circ}\text{C}$)** i dostarczyć do laboratorium tak szybko jak jest to możliwe, najlepiej w ciągu 24 godz. od chwili pobrania, a jeśli to jest niemożliwe to zamrozić **w temp. -70°C lub niższej**.

3. Miejsce dostarczenia próbek do badań

Materiały należy przysyłać na adres:

**ZAKŁAD BADANIA WIRUSÓW GRYPY. KRAJOWY OŚRODEK DS. GRYPY
NARODOWY INSTYTUT ZDROWIA PUBLICZNEGO – PAŃSTWOWY ZAKŁAD
HIGIENY, UL. CHOCIMSKA 24, 00-791 WARSZAWA**

UWAGA:

Należy wyraźnie zaznaczyć adresata próbek, tj. **ZAKŁAD BADANIA WIRUSÓW GRYPY. KRAJOWY OŚRODEK DS. GRYPY**.

W przeciwnym razie materiał może zostać dostarczony do niewłaściwej pracowni oraz być przechowywany w niewłaściwych warunkach.

4. Dodatkowe informacje

W razie jakichkolwiek pytań i wątpliwości dotyczących rodzaju materiału do badań, jego wymaganej objętości, sposobu pobrania, przechowywania, opakowania i transportowania oraz czasu oczekiwania na wynik badania prosimy o kontakt z Zakładem Badania Wirusów Grypy. Krajowym Ośrodkiem ds. Grypy w NIZP-PZH:
tel. (22) 54 21 274, faks (22) 54 21 294.