

## Załącznik nr 1 do instrukcji I-01/PO-21/LEI/D

### Zalecenia dotyczące pobierania, przechowywania i transportu materiałów klinicznych przeznaczonych do badań diagnostycznych w Pracowni Diagnostycznej Laboratorium Zakładu Badania Wirusów Grypy.

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

Poz.*	Badanie (zgodnie z Cennikiem Badań Diagnostycznych Laboratorium Zakładu Badania Wirusów Grypy w NIZP-PZH, taryfa opłat nr 15)	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 <sup>1</sup> - krew <sup>1</sup>
2.	Wykrywanie wirusa grypy (typ A i B) metodą RT-PCR	- wymaz z gardła <sup>2</sup> - wymaz z nosa <sup>2</sup> - aspirat odessany z nosowej części gardła
3.	Wykrywanie wirusa grypy (typ A i B) oraz wirusa RS metodą RT-PCR	- popłuczyny z drzewa oskrzelowego - płyn mózgowo-rdzeniowy (pmr) - wysięk z ucha środkowego
4.	Wykrywanie antygenów siedmiu wirusów oddechowych: wirusa grypy (typ A i B), wirusa RS, adenowirusa, wirusa paragrypy (typ 1, typ 2, typ 3) metodą immunofluorescencji	- wymaz z gardła <sup>2</sup> - wymaz z nosa <sup>2</sup>
9.	Wykrywanie wirusa grypy A metodą RT-PCR oraz wykrywanie wirusa grypy A/H1N1/v metodą Real Time RT-PCR	- wymaz z gardła <sup>2</sup> - wymaz z nosa <sup>2</sup> - aspirat odessany z nosowej części gardła - popłuczyny z drzewa oskrzelowego - płyn mózgowo-rdzeniowy (pmr) - wysięk z ucha środkowego
11.	Wykrywanie 12 wirusów oddechowych: grypy typu A i B, wirusa RS typu A i B, parainfluenzy typu 1, 2 i 3, ludzkiego metapneumowirusa (hMPV), adenowirusa, rhinowirusa, coronawirusa 229E/NL63 i OC43/HKU1 metodą PCR	- wymaz z gardła <sup>2</sup> - wymaz z nosa <sup>2</sup> - aspirat odessany z nosowej części gardła - popłuczyny z drzewa oskrzelowego - płyn mózgowo-rdzeniowy (pmr) - wysięk z ucha środkowego

\* numer pozycji, zgodnie z Cennikiem Badań Diagnostycznych Laboratorium Zakładu Badania Wirusów Grypy w NIZP-PZH, taryfa opłat nr 15

\*\* wykonanie badania w innym materiale może być możliwe po wcześniejszym uzgodnieniu z laboratorium

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

<sup>2</sup> 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 (Poz. 1 Cennika)

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. Próbkę surowicy od rekonwalescentów powinny być pobierane po 2 -3 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 i wymaz z nosa (Poz. 2, Poz. 3, Poz. 4, Poz. 9, Poz. 11 Cennika)

**2.2.1. W przypadku badań metodą PCR**, wymienionych w Poz. 2, Poz. 3, Poz. 9 i Poz. 11 Cennika, materiał najlepiej jest pobrać **do 7 dnia** od momentu wystąpienia objawów choroby. Sposób pobrania opisano w pkt. 3.2.3.

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 1 mL roztworu soli fizjologicznej, PBS lub podłoża transportowego wirusologicznego. Zawiesinę należy przygotować w sterylnej, szczelnie zamykanej probówce, nadającej się do mrożenia w temp.  $-70^{\circ}\text{C}$ . Do probówki należy przelać płyn, w którym zawieszono są wymazy, a następnie uzupełnić go do objętości nie więcej niż 1 mL 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.  $-70^{\circ}\text{C}$  lub niższej** i dostarczyć do laboratorium w warunkach uniemożliwiających rozmrożenie.

**2.2.2.** W przypadku badań metodą immunofluorescencji (Poz. 4 Cennika) materiał najlepiej jest pobrać **do 5 dnia** od momentu wystąpienia objawów choroby. Sposób pobrania opisano w pkt. 3.2.3. Pobrany 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 i **NIE ZAMRAŻAĆ**.

**2.2.3.** 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. Probówkę zakręcić i podpisać (nazwisko pacjenta, data pobrania wymazu). Patrz: ryc. 1.



Ryc. 1.

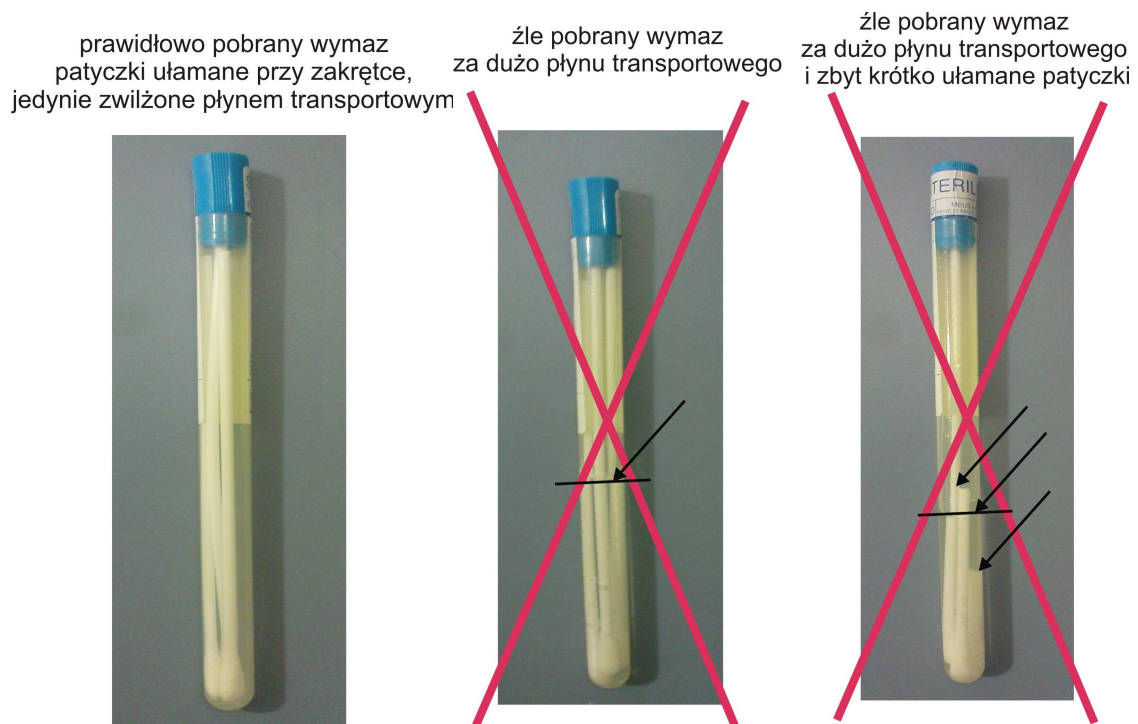
**b. 2 wymazy z nosa** (z obu nozdrzy) – należy upewnić się czy przed pobraniem materiału pacjent nie wydmuchiwał nosa. W celu pobrania wymazu należy delikatnie odchylić głowę pacjenta do tyłu i przytrzymać za podbródek. Drugą ręką umieścić koniec suchego sterylnego patyczka wymazowego w prawym nozdrzu pacjenta. Wymaz powinien być pobrany energicznie, aby mieć pewność, iż zawiera on zarówno komórki, jak i śluz z wnętrza nozdrza. Koniec patyczka wymazowego (tuż przy zakrętce) odłamać. **Patyczek wymazowy z pobranym materiałem umieścić następnie w probówce, w której jest już wymaz z gardła.** Probówkę zakręcić.

Wg tej samej procedury za pomocą nowego sterylnej patyczka wymazowego należy pobrać wymaz z lewego nozdrza. Patrz. Ryc. 2. W ten sposób w jednej próbówce znajdują się trzy patyczki wymazowe (Fot. 1).

Do próbki dodać tyle soli fizjologicznej lub PBS lub podłoża transportowego wirusologicznego, tak aby waciki, I TYLKO WACIKI, były **całkowicie zanurzone**. Nie należy stosować innych podłoży transportowych, np. bakteriologicznych (węgiel, agar itp.) (Fot. 1).



Ryc. 2.



Fot. 1.

### **2.3. Aspirat odessany z nosowej części gardła (Poz. 2, Poz. 3, Poz. 9, Poz. 11 Cennika)**

Wydzieliny z nosogardzieli są aspirowane poprzez cewnik połączony z pojemnikiem na śluz oraz ze źródłem ssącym. Cewnik jest wkładany w nozdrze pacjenta równoległe do podniebienia. Po włączeniu podciśnienia, cewnik jest powoli wysuwany ruchem obrotowym. Śluz z drugiego nozdrza jest zbierany za pomocą tego samego cewnika w podobny sposób. Po zebraniu śluzu z obu nozdrzy, cewnik jest przemywany 3 mL środka stanowiącego podłoże transportowe (sól fizjologiczna lub PBS).

Aspirat 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.  $-70^{\circ}\text{C}$  lub niższej.**

### **2.4. Popłuczyny z drzewa oskrzelowego (BAL) (Poz. 2, Poz. 3, Poz. 9, Poz. 11 Cennika)**

Popłuczyny z drzewa oskrzelowego w objętości 1 mL – 2 mL w jałowej zamkniętej próbówce 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.  $-70^{\circ}\text{C}$  lub niższej.**

### **2.5. Płyn mózgowo-rdzeniowy (pmr) (Poz. 2, Poz. 3, Poz. 9, Poz. 11 Cennika)**

Próbkę płynu mózgowo-rdzeniowego (pmr) w objętości 1 mL – 2 mL w jałowej zamkniętej próbówce 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.  $-70^{\circ}\text{C}$  lub niższej.**

### **2.6. Wysiłek z ucha środkowego (Poz. 2, Poz. 3, Poz. 9, Poz. 11 Cennika)**

Próbkę wysięku z ucha środkowego w jałowej zamkniętej próbówce 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.  $-70^{\circ}\text{C}$  lub niższej.**

## **3. Miejsce dostarczenia próbek do badań**

Materiały należy przesyłać 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 wątpliwości i pytań, 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. (022) 54 21 274, faks (022) 54 21 294.