

**Zakład Badania Wirusów Grypy, Krajowy Ośrodek ds. Grypy
Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego
PZH – Państwowy Instytut Badawczy**

**Załącznik nr 1 do instrukcji I-01/PO-21/LEI/D
(obowiązuje od dnia: 15.02.2019 r.)**

Zalecenia dotyczące pobierania, przechowywania i transport 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-PIB, 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 linia Yamagata i linia Victoria	- surowica krwi ¹ - krew ¹
2.	Wykrywanie wirusa grypy (typ A i B) metodą RT-PCR	- wymaz z gardła ¹ - wymaz z nosa ² - aspirat odessany z nosowej części gardła - popłuczyny z drzewa oskrzelowego - płyn mózgowo-rdzeniowy (pmr) - wysięk z ucha środkowego

¹ wskazane jest dostarczenie łączonej próbki do badań, tj. wymazu z gardła wraz z wymazami z nosa

8.	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, rhinowirusa, koronawirusa 229E/NL63 i OC43/HKU1, bocawirusa, enterowirusa metodą PCR.	- wymaz z gardła ² - wymaz z nosa ² - aspirat odessany z nosowej części gardła - popłuczyny z drzewa oskrzelowego - płyn mózgowo-rdzeniowy (pmr) - wysięk z ucha środkowego - materiał sekcyjny: płuca, krtań, tchawica, oskrzela, serce, śledziona, trzustka, mózg
9.	Wykrywanie wirusa grypy typu A i typu B	- wymaz z gardła ² - wymaz z nosa ²
10.	Wykrywanie wirusa grypy typ A i typ B oraz subtypy wirusa grypy typu A (A/H1N1/, A/H1N1/pdm09 , A/H3N2/), B (linia Yamagata i linia Victoria) metodą Real Time RT-PCR	- wymaz z gardła ² - wymaz z nosa ² - aspirat odessany z nosowej części gardła - popłuczyny z drzewa oskrzelowego
11.	Wykrywanie wirusa grypy (typ A i B) metodą Real Time RT-PCR - uzyskanie wyniku po 3 godzinach	- płyn mózgowo-rdzeniowy (pmr) - wysięk z ucha środkowego - wymaz z gardła ²

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

** wykonanie badania w innym materiale może być możliwe po wcześniejszym uzgodnieniu z laboratorium¹ dla właściwej interpretacji wyników badanie powinno zostać wykonane dla pary surowic, tj. surowicy z ostrego okresu choroby, a następnie surowicy pobranej w okresie rekonwalescencji

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 -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 włóknika) należy przenieść do jałowej, podpisanej danymi pacjenta oraz datą pobrania materiału, szczelnie zamykanej próbówki.
- Surowicę należy przechowywać i transportować w temp. chłodni (5±3°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 (Poz. 2, Poz. 8, Poz. 9, Poz. 10, Poz. 12 Cennika)

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.

Pobrano materiał należy przechowywać i transportować **w pozycji pionowej w temp. chłodni (5±3°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 ZWIAZKU Z CZYM NIE NALEŻY ICH UŻYWAĆ.

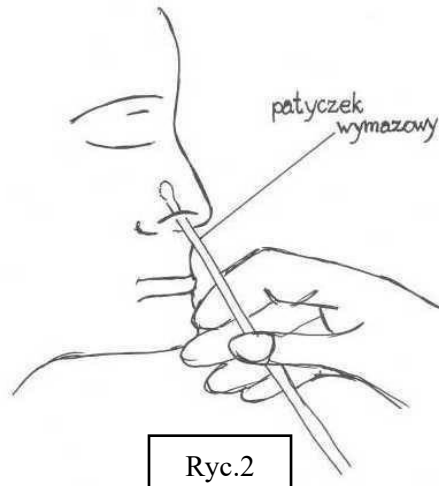
- a. **wymaz z gardła** – należy poprosić pacjenta o szerokie otwarcie jamy ustnej. Używając szpatułki docisnąć język ku dołowi, co pozwoli uniknąć kontaminacji wymazu śliną i za pomocą suchego sterylnego patyczka wymazowego energicznie potrząść obie powierzchnie migdałków oraz tylną ścianę gardła (bez dotykania powierzchni jamy ustnej) zwracając szczególną uwagę na miejsca zapalnie zmienione. Koniec patyczka wymazowego (tuż przy zakrętcie) 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.



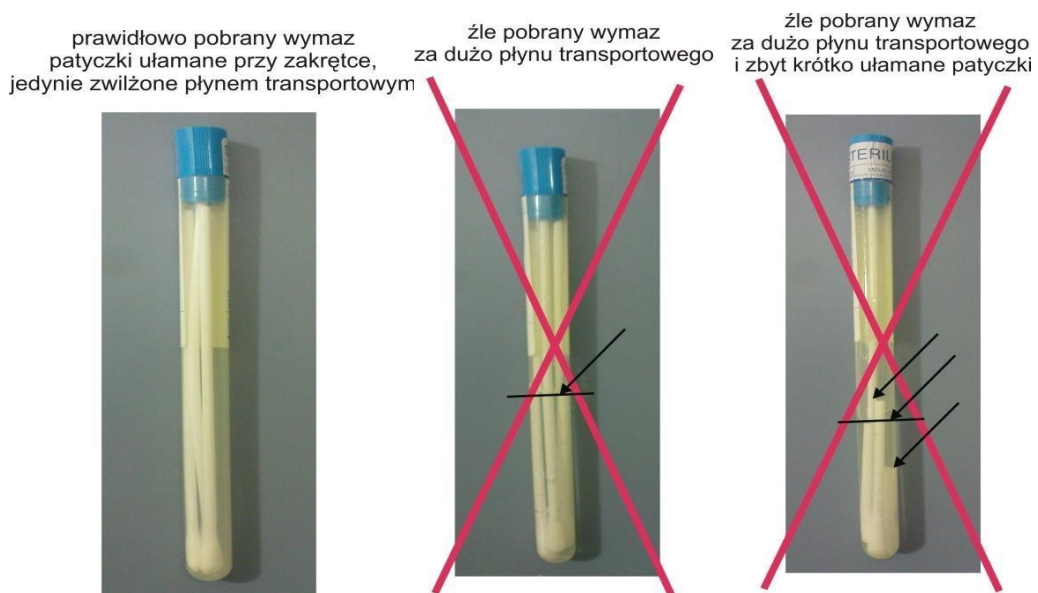
Ryc.1

- 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 próbówki 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 próbówce znajdują się dwa patyczki wymazowe (Fot. 1).



Ryc.2



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 próbówce znajdują się dwa patyczki wymazowe próbówce znajdują się trzy patyczki wymazowe.

2.3. Aspirat i popłuczyny z nosogardzieli, popłuczyny z nosa, popłuczyny z drzewa oskrzelowego, płyn mózgowo-rdzeniowy (Poz. 2, Poz. 8, Poz. 10, Poz. 12 Cennika)

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 (Poz. 2, Poz. 8, Poz. 10, Poz. 12 Cennika) 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**.

2.5. Materiał sekcyjny (Poz. 8 Cennika)

Próbki tkanki (płuca, krtań, tchawica, oskrzela, serce, śledziona, trzustka, mózg) należy pobrać do jałowych pojemników niezawierających podłoża transportowego. W przypadku większych narządów, takich jak płuca, próbki należy pobrać z kilku różnych miejsc organu. Po pobraniu próbkę należy przechowywać i transportować **w temp. chłodni ($5\pm 3^{\circ}\text{C}$)** i dostarczyć do laboratorium tak szybko jak jest to możliwe. Jeżeli transport tego samego dnia nie jest możliwy, pobranie próbki należy zamrozić **w temp. -70°C lub niższej (bez podłoża transportowego)**.

3. Miejsce dostarczenia próbek do badań

**ZAKŁAD BADANIA WIRUSÓW GRYPY, KRAJOWY OŚRODEK DS. GRYPY
NARODOWY INSTYTUT ZDROWIA PUBLICZNEGO
PAŃSTWOWY ZAKŁAD HIGIENY – PAŃSTWOWY INSTYTUT BADAWCZY
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-PIB: tel.: (22) 54 21 274, (22) 54 21 337.